

THESIS

MUNICH

1965

PANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

LASSEN SICH
WIRKUNGSUNTERSCHIEDE VON
NELKENÖL GEGENÜBER EUGENOL
NACHWEISEN ?

Edwin Krausenecker



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0035

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. M. Kiese

LASSEN SICH
WIRKUNGSUNTERSCHIEDE VON
NELKENÖL GEGENÜBER EUGENOL
NACHWEISEN ?

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Edwin Krausenecker
aus Schleißheim

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. R. v. WERZ
Mitberichterstatter:	Professor Dr. M. KIESE
Dekan:	Professor Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 12.10.1965

A. EINLEITUNG	1
B. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	2
C. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	3
D. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	4
E. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	5
F. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	6
G. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	7
H. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	8
I. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	9
J. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	10
K. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	11
L. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	12
M. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	13
N. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	14
O. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	15
P. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	16
Q. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	17
R. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	18
S. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	19
T. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	20
U. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	21
V. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	22
W. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	23
X. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	24
Y. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	25
Z. VERGEGENSTÄNDLICHE EINLEITUNG	26

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. EINLEITUNG	7
Zahnärztliche Erfahrungen mit Nelkenöl und Eugenol	7
Chemische und pharmazeutische Eigenschaften	12
II. EXPERIMENTELLER TEIL	14
Herstellung der Vergleichslösungen	14
A.) Physikalisch-chemische Versuche	16
1. Spektrophotometrische Untersuchungen	16
a) Spektrale Absorptionskurven	16
b) Bestimmung der Wasserlöslichkeit von Eugenol	18
c) Eugenolgehalt in gesättigter wässriger Lösung von Nelkenöl	19
d) Abhängigkeit der in wässrige Lösung gehenden Eugenolmenge vom Eugenolgehalt der Nelkenöle	20
2. Versuche an Eiweißlösungen	22
B.) Biologisch-pharmakologische Versuche	24
1. Vorversuche	24
a) Geruchs- und Geschmacksprobe	24
b) Wirkung auf Schleimhäute beim Menschen bei Tieren (Froschpfote, Kaninchenkornea)	25
c) Wirkung auf Cutis und Subcutis beim Menschen beim Tier (Meerschweinchen, Kaninchenohr)	28
2. Hauptversuche	29
a) Hämolyse	29
b) Froschherz	32
c) Kaulquappen	35
III. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	39
IV. ZUSAMMENFASSUNG	40
V. LITERATURVERZEICHNIS	43

I. EINLEITUNG

ZAHNÄRZTLICHE ERFAHRUNGEN MIT NELKENÖL UND EUGENOL

Es gibt kein anderes Arzneimittel, welches in der konservierenden Zahnheilkunde nun schon seit gut einem halben Jahrhundert im Gebrauch, auch heute noch eine so große Rolle spielte wie das Nelkenöl bzw. sein Hauptbestandteil Eugenol, die sich beide, mit Zinkoxyd zu einer erhärtenden Paste angerührt, besonders bei der Versorgung der Dentinwunde sowie als Pulpenschutz immer noch großer Beliebtheit erfreuen.

Wenn man von der "direkten Überkappung" der - eröffneten - Pulpa absieht, bei der das Zinkoxyd-Nelkenöl bzw. -Eugenol heute therapeutisch allgemein vom Kalziumhydroxyd abgelöst ^{x)} wurde, so sind Mischungen dieser Art immer noch "Mittel der Wahl" für die sogenannte indirekte Überkappung, also für die Versorgung von Kavitäten, wobei - der "Wundverband" - der Pulpa nicht unmittelbar, sondern unter Belassung einer wenigstens dünnen Dentinschicht auf-
liegt.

Zu den namhaftesten Befürwortern dieser Therapie, die längst als klassisch bezeichnet werden könnte, gehören in unserer Zeit vor allem REBEL ³⁷⁾, HÄUPL ¹⁷⁾, SPRETER VON KREUDENSTEIN ⁴⁸⁾, SCHUG-KÖSTERS ⁴⁴⁾ u. a. . Besonders bezeichnend für die Beliebtheit von Nelkenöl- bzw. Eugenol mit Zinkoxyd bei dieser Indikation ist eine Umfrage bei bekannten Autoren in den USA ⁵⁾, die ergab, daß das Zinkoxyd-Nelkenöl auch dort als reizlosester Füllungsstoff anerkannt wird; bei uns äußerte sich in ähnlichem Sinne besonders WANNENMACHER ⁵⁸⁾, der "aufgrund jahrzehntelanger Erfahrung" zu dem Schluß kommt, daß die Pulpa bei indirekter Überkappung durch Zinkoxyd-Eugenol am wenigsten geschädigt werde.

Außer diesem wichtigsten Anwendungsbereich hat es von jeher eine Reihe von Nebenindikationen gegeben, angefangen von der primitiv-empirischen Anwendung von Nelkenöl als "Zahnwehmittel" bzw. sogenanntes Anodynum ¹⁾ bei pulpitischen Schmerzen ^{xx)}, über die Verwendung in sogenannten Amputationspasten, Devitalisationspasten und Wurzelfüllungsmaterialien bis hin zur Anwendung in sogenannten Zahnfleischverbänden ⁸⁾ und zur Herabsetzung der Sensibilität des Dentins, ganz abgesehen vom Zusatz von Nelkenöl/Eugenol sogar zu Zahnpasten und Mundwässern.

x) Die direkte Überkappung mit Zinkoxyd-Nelkenöl bzw. -Eugenol, die im deutschen zahnärztlichen Schrifttum von jeher nur von einigen wenigen Autoren empfohlen worden war (Szabo ⁵²⁾, Hentze u. a.) hielt sich in Schweden ⁴⁰⁾ und den USA ²⁾ etwa bis vor einem Jahrzehnt, bis sie in dieser Indikation auch dort vom Kalziumhydroxyd verdrängt wurde.

xx) In ADR noch erwähnt bis in die neueste Zeit

Diese nun schon fast ehrwürdige und vielseitige Anwendung hängt zweifellos damit zusammen, daß im Nelkenöl (Eugenol) zufällig eine naturgegebene Verbindung mehrerer Eigenschaften vorlag, die es auf einer noch frühen Entwicklungsstufe der Zahnheilkunde dem Zahnarzt empfohlen: Diese Eigenschaften begründen nämlich eine entsprechende "natürliche Wirkungstrias", die charakterisiert ist durch eine desinfizierende, analgetische und eine rein physikalisch wertvolle Komponente (Bildung eines sog. Zements ähnlich wie sonst nur noch bei Guajakol und Methylguajakol). Für die heutige Wertschätzung sollte diese zufällige Verknüpfung therapeutisch brauchbarer Eigenschaften freilich längst nicht mehr die gleiche Rolle spielen, weil uns inzwischen selektiv wirksame Stoffe von weit günstigerem therapeutischen Quotienten an die Hand gegeben sind, mit denen sich diese Einzelwirkungen sicherer und unter geringeren Gefahren für die Pulpa erzielen lassen. Indessen ist gerade der Widerstand, der diesen selektiv wirksamen Pharmaka entgegengesetzt wird, kennzeichnend für die konservative Haltung vieler Zahnärzte: So konnte sich z.B. die gerade für die Pulpitisbehandlung so aussichtsreiche Kombination von Antibiotikum und entzündungshemmendem Corticoid, die sonst in allen Zweigen der Medizin epochemachend wurde, in der Zahnheilkunde gegenüber dem Nelkenöl bisher noch nicht durchsetzen, obwohl sich gerade bei der Therapie der Pulpitis, wie A. SCHROEDER ⁴³⁾ mit Recht betont, "alles um die Entzündung dreht", d.h. das Schicksal der Pulpa von der Vermeidung der Entzündung abhängt.

Diese andauernde Beliebtheit des Nelkenöls/Eugenols ist aber umso erstaunlicher, wenn man berücksichtigt, daß es relativ frühzeitig auch negative Erfahrungen gegeben hat und seine entzündungserregende Wirkung nicht unbemerkt geblieben ist.

So beobachtete LÜTHI ²⁶⁾ bereits 1928 Einschmelzung und Abszessbildung im Periodontium beim Gebrauch von Eugenol. SCHUMACHER stellte ebenfalls eine schädigende Wirkung bei seinen Versuchen am Menschen- und Hundezahn fest. ZANDER ⁵⁹⁾ konnte Zeichen chronischer Entzündung der Pulpa bei der Verwendung von Eugenol als Überkappungsmittel feststellen. Von CASTAGNOLA ⁹⁾ werden diese Pharmaka aufgrund histologischer Ergebnisse für die direkte Überkappung nicht empfohlen. Zuletzt stellte LANDGRAF LÖRINCZY ²⁵⁾ im Rahmen einer sorgfältigen klinischen Studie an 46 indirekt überkappten Molaren mit Zinkoxyd-Eugenol am Menschen nach histologischer Untersuchung nur Mißerfolge fest.

Tierexperimentell beobachteten GURLEY und van HUYSEN ¹⁵⁾ am Hundezahn nach Zinkoxyd-Eugenol-Einlagen retikuläre Atrophie der Pulpen und QUIGLEY ³⁶⁾ an Hamstermolaren akute Hyperämie, Abszessbildung sowie Degeneration der Odontoblasten.

Wenn die Beobachtung pulpenschädigender Wirkung sowie die Bekanntgabe klinischer Mißerfolge dennoch keine Abkehr von Eugenol bzw. Nelkenöl nach sich gezogen hat, sondern nur zu einer Einschränkung der Indikationsstellung beigetragen

zu haben scheint, so hängt das wohl damit zusammen, daß man in neuerer Zeit die Widerstandsfähigkeit der Pulpa gegenüber verschiedenen Noxen höher und vor allem differenzierter als bislang einzuschätzen gelernt hat: Ort der Applikation (Pulpennähe, Pulpenferne), biologischer Zustand (jugendliche-, Alters-, hyperämische, entzündete, atrophische Pulpa) und Anwendungsform (flüssige oder steife Paste, ferner wirkungsändernde Zusätze, wie Colophonium, Silber-, Zink-, Wismutsalze, Tymol u. a. (USA) sind in jedem Fall der Anwendung dieser Präparate zu berücksichtigen, wenn die Deutung der betreffenden Beobachtungen nicht fehlgehen soll. So werden wir heute verstehen können, daß es angesichts der teilweise recht schwierig zu beurteilenden Verhältnisse der Pulpa kein Widerspruch zu sein braucht, wenn eine jugendliche, akzidentell eröffnete aber gesunde Pulpa (vergl. auch Pulpen von Nagern mit dem weiten foramen apikale) unter Umständen sogar eine direkte Überkappung mit Zinkoxyd-Nelkenöl bzw. Zinkoxyd-Eugenol klinisch erfolgreich ^{40) 56)}, und zwar sogar unter Bildung von Sekundärdentin überstehen kann, während eine pathologisch auch nur leicht veränderte Pulpa, etwa im Stadium der an sich noch reversiblen Pulpitis partialis selbst die indirekte Überkappung nicht mehr verträgt ²⁵⁾.

Solche Einsichten machen es jedenfalls verständlich, daß im Laufe der Zeit wenigstens einige Versuche unternommen wurden, um die zum Teil so widersprüchliche Beurteilung des Nelkenöls/Eugenols verständlich zu machen bzw. zu überbrücken. Zur Erklärung solcher scheinbaren Widersprüche wurde insbesondere auf folgende drei wirkungsbestimmende Faktoren verwiesen:

1. WIRKUNG ABHÄNGIG VON PULPENNÄHE?

Es war die Basler Schule O. MÜLLERS ³¹⁾, die erstmals auf diesen Gesichtspunkt hingewiesen hat, in einer leider nur 40 Zähne betreffenden Arbeit von KOCH ²⁴⁾, in der gezeigt wird, daß nur bei pulpaferner Applikation (nicht tiefe Kavität) mit Heilung, dagegen bei Anwendung in tiefen Kavitäten mit überwiegend pulpenschädigenden Reaktionen der Einlagen, also mit einem Mißerfolg der Behandlung gerechnet werden muß.

2. WIRKUNG ABHÄNGIG VON PASTENKONSISTENZ ?

Von maßgebenden Befürwortern der Zinkoxyd-Nelkenölbehandlung, die sich auf Erfolge dieser Methode berufen können, hat insbesondere REBEL ³⁸⁾ wiederholt darauf aufmerksam gemacht, daß die Paste so steif wie möglich angespatelt werden muß, damit Reize durch überschüssiges d. h. ungebundenes Nelkenöl vermieden werden. In der Tat weiß man auch aus anderen Versuchen zum Beispiel durch Aufbringen solcher Pasten auf mit Bakterien beimpfte Agarplatten, daß die - bakterio-statische - Wirkung des Öls mit der Erhärtung der Paste rasch verloren geht ²⁷⁾. Das gleiche dürfte danach wohl auch für die reizende Wirkung des Nel-

kenöls gelten. Herabsetzung der Eugenoldiffusion als mögliche Erklärung einer "milderer" Wirkung könnte vielleicht auch die Beliebtheit von Harzzusätzen (Colophonium) zur Paste verständlich machen, wie sie besonders in den USA rein empirisch Anwendung finden. Sie könnte auch erklären, weshalb sich diese Pasten selbst für die unmittelbare Applikation auf die Pulpa (direkte Überkappung) dort länger halten konnten als bei uns, wo sie in dieser Indikation schon früher vom Kalziumhydroxyd verdrängt wurden.

3. WIRKUNG DES NELKENÖLS "MILDER" ALS DIE VON EUGENOL?

Einige der bisher schon erwähnten Kliniker führten schließlich ihre günstigen Erfahrungen auf den Umstand zurück, daß sie nur das mutmaßlich "mildere" Nelkenöl und nicht das ihrer Ansicht nach gewebsschädlichere Eugenol verwandten. Leider wurde diese Hypothese bisher ausschließlich klinisch und auch dort nicht in einem ihrer Bedeutung entsprechenden Umfang geprüft.

KOCH ²⁴⁾, der ausnahmsweise den Versuch des unmittelbaren Vergleichs beider Substanzen am Menschenzahn unternahm, kam in seinen histologischen Untersuchungen an (nachträglich extrahierten) Zähnen zu dem Ergebnis, daß Eugenol in Verbindung mit Zinkoxyd bei tiefen Kavitäten schädigend auf die Pulpa wirke, während bei oberflächlicheren keine histologischen Veränderungen festzustellen seien. Demgegenüber hatte Nelkenöl in Verbindung mit Zinkoxyd auch bei tiefen Einlagen nur geringe Schädigungen zur Folge, während es bei oberflächlichen Einlagen bei keiner dieser Kombinationen zu einer Schädigung der Pulpa kam. Der gleiche Autor will übrigens einen Unterschied auch hinsichtlich der Schmerzauslösung festgestellt haben: Bei 12 tiefliegenden Eugenoleinlagen traten Schmerzen an 9 Zähnen auf; dagegen waren es bei 15 vergleichbaren Einlagen mit Nelkenöl nur 3 Zähne, die mit Schmerzen reagierten. Pulpenferne Einlagen führten entsprechend den histologischen Befunden weder bei Nelkenöl noch bei Eugenol zu Schmerzen. Sonst aber muß zugegeben werden, daß es an beweisenden Vergleichen fehlt, wie auch schon ROTKE ³⁹⁾ bemängelte. Was den Menschenzahn betrifft, hängt dieser Mangel in erster Linie damit zusammen, daß es relativ schwierig ist, ein genügend großes histologisches Beweismaterial zu sammeln, während andererseits die Pulpa der Nagetiere viel widerstandsfähiger ist, so daß sie z.B. auf Zinkoxyd-Eugenol mit fast ebenso guter Ersatzdentinbildung reagiert wie auf Kalziumhydroxyd ⁴⁾.

So bleiben denn nur wenige Arbeiten, in denen überhaupt Zinkoxyd-Eugenol und Nelkenöl, meist an Hand einzelner und mehr oder weniger willkürlicher Kriterien vergleichend erwähnt werden. So vertritt O. MÜLLER ³¹⁾ die Auffassung, daß Eugenol schädigend auf die Pulpa wirke, dagegen das Nelkenöl unschädlich sei. Er und P. HEYDEN ²¹⁾ sehen den Nachteil des Eugenols in der freiwerdenden "Eugen-säure", was jedoch nur eine ältere Bezeichnung für Eugenol ist, wie man z.B. noch in THOMS Handbuch der Pharmazie von 1927 ⁵⁵⁾ lesen kann. RUST ⁴⁰⁾, der mit

Zinkoxyd-Eugenol in 27 Fällen direkter Überkappung und einer angeblichen Erfolgsquote von 89 % bei Verwendung von Zinkoxyd-Eugenol und Nelkenöl seine Ergebnisse auf röntgenologische Untersuchungen, elektrothermische und Perkussionsprüfung auf Farb- und Transparenzvergleich, sowie auf anamnestiche Erhebungen stützt, kommt zu dem Ergebnis, daß das Nelkenöl dem Eugenol vorzuziehen sei, da im Eugenol mehr oder weniger indifferente Zusätze vorhanden seien (!). REBEL³⁸⁾ ist der Überzeugung, daß das "deutlich recht weniger saure und von Natur aus stark abgemilderte Nelkenöl dem Eugenol als Phenolabkömmling vorzuziehen" sei. In die gleiche Richtung gehen die Äußerungen von SCHREIBER, VORTMANN, MITZE, MOTSCH⁴²⁾, die angeben, daß Eugenol im Gegensatz zu Nelkenöl schwach gewebsschädigend wirke, weil es nicht dessen "puffernde", indifferente Komponenten enthalte. Auch KETTENBACH²⁹⁾, der sich als Hersteller einschlägiger Präparate, insbesondere mit den physikalisch chemischen Eigenschaften von Nelkenöl und Eugenol befaßte, führt (private Mitteilung) die bessere Verträglichkeit des Nelkenöls auf die "Pufferwirkung" der Terpene und Sesquiterpene zurück. Doch wurde von Klinikern, die zu dieser Frage Stellung nehmen, gelegentlich auch ein entgegengesetzter Standpunkt eingenommen, so z.B. von WANNENMACHER⁵⁸⁾, der das Zinkoxyd-Eugenol dem Zinkoxyd-Nelkenöl als besser definierte Paste vorzieht.

Nach alledem muß es als sehr wünschenswert erscheinen, daß endlich die Wirkung des Nelkenöls mit der des Eugenols in eigens darauf gerichteten biologischen Versuchen verglichen wird und zwar unter möglichst einfachen Bedingungen. Die Durchsicht der Literatur ergab an solchen Vergleichen nur eine sehr geringe Ausbeute. Unseres Wissens hat lediglich SCHACH⁴¹⁾ im Rahmen einer weiter gefaßten Fragestellung u. a. auch die Wirkung von Nelkenöl und Eugenol auf Eiweiß untersucht, wobei sich aus der zugehörigen Abbildung eine stärker eiweiß-fällende Wirkung des Eugenols erkennen läßt. MAIZUMI und SAUERWEIN²⁸⁾, die die Wirkung verschiedener Vitalerhaltungs- und Wurzelfüllmittel auf Gewebekulturen verglichen, stellten, wenn man sich nach der Tabelle in ihrer Publikation richtet, keinen sicheren Unterschied zwischen Zinkoxyd-Nelkenöl und Zinkoxyd-Eugenol fest.

Unter den von den Verfassern geprüften "Mitteln zur Vitalerhaltung der Pulpa" zeigten sich Nelkenöl, Eugenol und Zinkoxyd insgesamt am wenigsten gewebsfreundlich.

Interessant ist, daß Zinkoxyd allein überall noch stärker wachstumshemmend (!) erscheint als in Mischung mit Eugenol/Nelkenöl.

Eine mindestens quantitativ stärkere Wirkung des Eugenols gegenüber dem Nelkenöl könnte ja, wie zahnärztlicherseits auch bereits vermutet, in der Tat denkbar sein, läßt sich doch das Naturprodukt als ein im wesentlichen durch Terpene "verschnittenes" d. h. verdünntes Eugenol auffassen, mithin als eine Art von "Pufferantiseptikum", wie es etwa die Lösung von Phenol in Olivenöl oder - in

freilich entfernterer Analogie - die Mischung von Phenol mit Kampfer darstellt, die bekanntlich beide seinerzeit wegen ihrer vergleichsweise viel geringeren Gewebsschädlichkeit bei gerade noch ausreichender bakteriostatischer Wirkung in die chirurgische (KOCH 1886) bzw. zahnärztliche Therapie (WALKOFF 1921) eingeführt wurden.

Vor den Versuchen an biologischen Modellen erschien es erforderlich, kurz auf physikalisch-chemische und pharmazeutische Eigenschaften einzugehen und dabei insbesondere die Löslichkeitsverhältnisse der zu vergleichenden Substanzen zu berücksichtigen.

CHEMISCHE UND PHARMAZEUTISCHE EIGENSCHAFTEN

Nelkenöl, *Oleum Caryophylli*, ein ätherisches Öl mit dem spezifischen Gewicht 1,06, das aus den Blütenknospen und -blättern von *Eugenia caryophyllata* Thunberg gewonnen wird, einem immergrünen, ursprünglich auf den Molukken und südlichen Philippinen beheimateten, später besonders in Sansibar kultivierten Baum (Myrtazeae), ist seit etwa 1540 als Gewürz- oder Heilmittel in Gebrauch ¹³⁾. Frisch destilliert, stellt es eine klare, fast farblose bis gelbliche, an der Luft sich bräunende ³⁴⁾, stark lichtbrechende Flüssigkeit dar; deren Geruch wird oft als scharf gewürzhaft, ihr Geschmack als bitter und anhaltend brennend beschrieben. Nelkenöl ist leicht löslich in Äthylalkohol, Äther und Chloroform, sehr schwer löslich in Glycerin und nach Angabe der meisten Handbücher "fast unlöslich" in Wasser ⁵³⁾ (siehe auch unter Eugenol). Das Öl wird aus den Nelkenknospen oder -blättern, die ganz belassen oder zerkleinert werden, durch Wasserdampfdestillation oder mit Hilfe von trockenem Dampf bei einer Ausbeute von 16 - 19 % gewonnen. Bekannt ist die Zusammensetzung dieses ätherischen Öls aus mannigfachen Bestandteilen. Der Eugenolgehalt des Nelkenöls beträgt nach BOURNOT ⁶⁾ einschließlich Azeteugenol 80 - 96 %, nach Angaben des ÖSTERREICHISCHEN ARZNEIBUCHS ³⁴⁾ einschließlich Azeteugenol 84 - 96 %, nach GILDEMEISTER-HOFFMANN ¹³⁾ 70 - 90 %. Neben Azeteugenol, dessen Anteil im Nelkenöl nach ERDMANN ¹²⁾ 2 - 3 %, nach E.G. SPRUNGE ⁴⁹⁾ 2 - 17 %, nach SMITH ⁴⁷⁾ 10 - 15 % beträgt, wurden im Nelkenöl noch β -Pinen, Methylalkohol, Methylbenzoat, Heptanol(2)alkohol, Nonanol(2)alkohol, Benzylalkohol, Furfurylalkohol, Methylfurfurylalkohol, Vanillin, Valeraldehyd, Furfural, Methyl- und Dimethylfurfural, ferner Methyl-n-heptylketon, Methyl-n-amylketon, Salicylsäuremethylester und je nach Behandlung und Herkunft eine ganze Reihe ähnlicher Stoffe festgestellt ¹³⁾. Ein recht charakteristischer Bestandteil sind vor allem gewisse Sesquiterpene, die als Caryophyllene (α und β) bezeichnet werden und die nach GILDEMEISTER-HOFFMANN 5 - 12 % des Nelkenöls ausmachen.

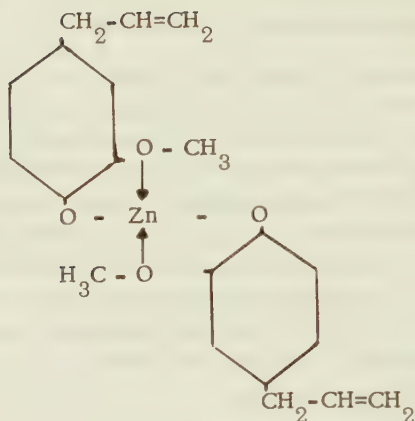
Bei der Reinheitsprobe nach BOURNOT ⁶⁾ muß sich 1 ml Nelkenöl in 2 ml

Äthylalkohol (70 Volum%) lösen; die Reaktion soll, schüttelt man 0,5 ml Nelkenöl mit 10 ml Wasser von 50°C, neutral oder schwach sauer sein und dabei darf diese Lösung mit FeCl₃ keine Blaufärbung annehmen.

Eugenol ist ein 4-allyl-2-methoxy Phenol (Allylguajakol) mit der Samelformel C₁₀H₁₂O₂, hat ein Molekulargewicht von 164,20; das spezifische Gewicht wird bei 15°C mit 1,072 und der Siedepunkt bei 248°C angegeben; in Wasser gilt es als "unlöslich" ⁵³⁾ 6) bzw. "fast unlöslich" ⁶⁾ 11), als gut löslich dagegen in Alkohol, Äther, Chloroform und den verschiedensten Ölen; bei zunehmendem Alter tritt gelbe bis bräunliche Dunkelung ein. Eugenol kommt in kleineren Mengen in vielen ätherischen Ölen vor und bildet nach GILDEMEISTER-HOFFMANN mit 70 - 90 % (nach DAB VI 80 - 96 %) den Hauptbestandteil des Nelkenöls, aus dem es leicht darzustellen ist, indem man es mit Alkalilauge, worin Eugenol unter Bildung von Natriumphenolat löslich ist, behandelt, und es mit verdünnter Salzsäure aus der Alkaliverbindung abscheidet.

Nachweisbar ist Eugenol mit Eisen-III-chlorid nur in alkoholischer Lösung ¹⁶⁾; ferner auf einer Absorptionssäule, die mit Frankonit KL beschickt ist, wo es eine charakteristische blaugrüne Farbe ergibt ³⁰⁾; spektrophotometrisch, wobei die Maxima bei 281, 230 und 206 nm liegen ³⁰⁾. Neuerdings auch mit Hilfe der Gaschromatographie ⁵⁰⁾ sowie mittels Ionenaustauschern (Wagner-Vincent ⁵⁷⁾.

Da sowohl Nelkenöl wie Eugenol in der Zahnheilkunde meist mit Zinkoxyd zu einer Paste angeteigt werden, die zu einer Art "Zement" erhärtet, sei auf den Bindungsmechanismus eingegangen. Röntgenaufnahmen und elektronenmikroskopische Untersuchungen dieser Massen zeigten ¹⁹⁾, "daß bei der chemischen Reaktion eine kristalline Verbindung gebildet wird, der auf Grund der chemischen Analyse und Molekulargewichtsbestimmung die empirische Formel (C₁₀H₁₁O₂)₂Zn eines Zinkeugenolats zugeschrieben wird". Aus Infrarot-Absorptionsspektren wurde geschlossen, daß es sich bei dem Zinkeugenolat um eine Chelatverbindung handelt, in der das ZnO in eine Matrix von langen, leistenähnlichen Kristallen eingebettet ist, der folgende Strukturformel zugeordnet wird:



ZINKOXYD-EUGENOL (Chelatform)
nach C. GOTTFRIED 14)

II. EXPERIMENTELLER TEIL

HERSTELLUNG DER VERGLEICHSLÖSUNGEN

Zu den Versuchen verwendeten wir neben Eugenol DAB VI

1. Nelkenöl, das, soweit nicht besonders hervorgehoben, aus einer Münchener Apotheke bezogen war und nach unserer Bestimmung (s. u.) einen Gehalt an Eugenol plus Azeteugenol von 96 % aufwies. Später nahmen wir für Vergleichsversuche mit Eugenol noch
2. DAB-Ware der Firma Dragoco ^{x)} Holzminden, mit 85 % Eugenolgehalt sowie
3. Nelkenöl rekt. 80/82 der Firma Riedel de Haën ^{x)} Listen-Nummer 33436 mit einem Eugenolgehalt von ebenfalls 85 %. Diese Firma stellte uns auch
4. Nelkenöl-Terpene Listen-Nr. 73565 und
5. ein damit auf 75 % Eugenol eingestelltes Nelkenöl zur Verfügung.

Für die Bestimmung des Eugenolgehalts der Nelkenöle einschließlich Azeteugenol wurde das von BOURNOT ⁶⁾ für das DAB VI vorgeschlagene Verfahren verwandt, bei dem im Cassiakölbchen von 100 ml 5 ml Nelkenöl mit 70 ml 20 %iger NaOH versetzt und unter kräftigem Umschütteln 15 Minuten im siedenden Wasserbad erwärmt werden. Das nicht gebundene Öl (später auch "Restöl" genannt) wird

x) Beiden Firmen sei hier für ihr Entgegenkommen gedankt. -

schließlich durch Zugabe kaltgesättigter NaCl-Lösung unter Beklopfen des Kölbchens in den graduierten Hals getrieben und abgelesen.

Nach diesem Verfahren zu prüfendes Nelkenöl darf nach BOURNOT nicht mehr als 1 ml und nicht weniger als 0.2 ml Restöl - entsprechend einem Gehalt von 80 bzw. 96 Volum% Eugenol einschließlich Azeteugenol - ergeben.

Soweit wir die Öle der obengenannten Herkunft nach diesem Verfahren geprüft haben, zeigten sie in Volum% folgende Gehalte:

Nelkenöl (1) der Apotheke:	0.2 ml Restöl entsprechend 96 % V/V Eugenol + Azeteugenol
Nelkenöl (3) von Riedel de Haën:	0.65 ml Restöl = 87 % V/V Eugenol + Azeteugenol
Nelkenöl (5) von Riedel de Haën:	"75 %": 1,1 ml Restöl entspricht 78 % V/V Eugenol + Azeteugenol

Im folgenden experimentellen Teil gingen wir jeweils von der gesättigten wäßrigen Lösung bzw. gesättigten isotonischen (Kochsalz- bzw. Froschringer-) Lösung aus. Diese Lösungen wurden durch Schütteln bei Zimmertemperatur hergestellt, wobei die spektrophotometrische Bestimmung ergab, daß sich das Gleichgewicht entsprechend der sehr geringen Wasserlöslichkeit rasch einstellte bzw. die Absorption der wäßrigen Lösung (beim Maximum von 280 nm) spätestens nach 20 Minuten ihr Maximum erreicht hatte. So ergab ein Versuch, bei dem nach 10, 20 und 40 Minuten Schütteln wässrige Phase entnommen wurde, nach Absetzen und Filtrieren bei 100facher Verdünnung mit destilliertem Wasser folgende Extinktionswerte:

Nach 10 Minuten bei 280 nm	0.305
Nach 20 Minuten bei 280 nm	0.320
Nach 40 Minuten bei 280 nm	0.320

Die stets gleichzeitig in der beschriebenen Weise hergestellten gesättigten Lösungen von Nelkenöl bzw. Eugenol wurden bis zur erkennbaren Trennung der Phasen stehengelassen. Nach zweimaliger Filtration (mittels Filterpapier C. Schleicher & Schüll Nr. 602 eh) wurden dann von den klaren Filtraten absteigende Verdünnungen hergestellt. Zum Vergleich der Wirkungen wurden anschließend gleiche Verdünnungen der gesättigten Lösungen (des gleichen Ansatzes) verwandt.

A.) PHYSIKALISCH-CHEMISCHE VERSUCHE

1. SPEKTROPHOTOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN

Aufgrund der guten Öllöslichkeit des Eugenols erschien es a priori durchaus möglich, daß in eine mit Nelkenöl ins Gleichgewicht gebrachte wäßrige Phase weniger Eugenol übergeht als aus reinem Eugenol. Um diese Vermutung zu prüfen, mußten wir ein Verfahren benützen, das die Bestimmung der erwartungsgemäß sehr geringen in wäßrige Lösung gehenden Eugenolmengen (BOURNOT u. a. s. S. 13 f) gestatten sollte. Dazu empfahl sich wegen ihrer hohen Empfindlichkeit die spektrophotometrische Bestimmung auf Grund der Absorption dieser Stoffe im Ultraviolett.

a) Spektrale Absorptionskurven

Zunächst nahmen wir eine spektrale Absorptionskurve des Eugenols in wäßriger Lösung auf (s. Abb. 2). Zu diesem Zweck verwandten wir eine gesättigte wässrige Eugenollösung, die wir 1 : 300 verdünnten. Die Absorptionskurve (die in Abb. 2 wiedergegeben ist) stimmte in ihrem Verlauf bzw. der Lage der Maxima (bei 202, 226 u. 278 nm) mit den in der Literatur für andere Medien veröffentlichten UV-Spektren nahe überein. Unter gleichen Bedingungen gesättigter Lösungen (1 : 300 verdünnt) wurde zudem die Absorption von Azeteugenol sowie von "Restöl" untersucht. Darunter verstehen wir den Rückstand des Nelkenöls, der sich nach der Eugenolbestimmung im Hals des Cassiakölbchens abscheidet (er besteht also im wesentlichen aus Nelkenöl minus Eugenol und Azeteugenol).

Die Kenntnis der Absorptionsmaxima bot nun die Grundlage, um den Eugenolgehalt wäßriger Lösungen quantitativ zu bestimmen. (Für das Verhältnis von Konzentration und Lichtabsorption gilt das LAMBERT-BEER'SCHE Gesetz). Da sich für diese Zwecke das bei 278 nm gelegene Maximum am besten eignete, nahmen wir bei dieser Wellenlänge eine Eichkurve auf.

Hierzu brachten wir eine eingewogene Menge von 50 mg Eugenol in einen Meßkolben von 1 l Inhalt und schüttelten unter Zusatz von zunächst 500 ml aqua dest. bis zur völligen Lösung, wonach zur Marke aufgefüllt und durchmischt wurde. Von dieser 50 mg im l enthaltenden, für das freie Auge leeren Lösung wurden absteigende Verdünnungen hergestellt und die zugehörigen Extinktionswerte ermittelt. Aus den erhaltenen Werten wurde eine Eichkurve erstellt. (s. Abb. 3)

Abb. 2

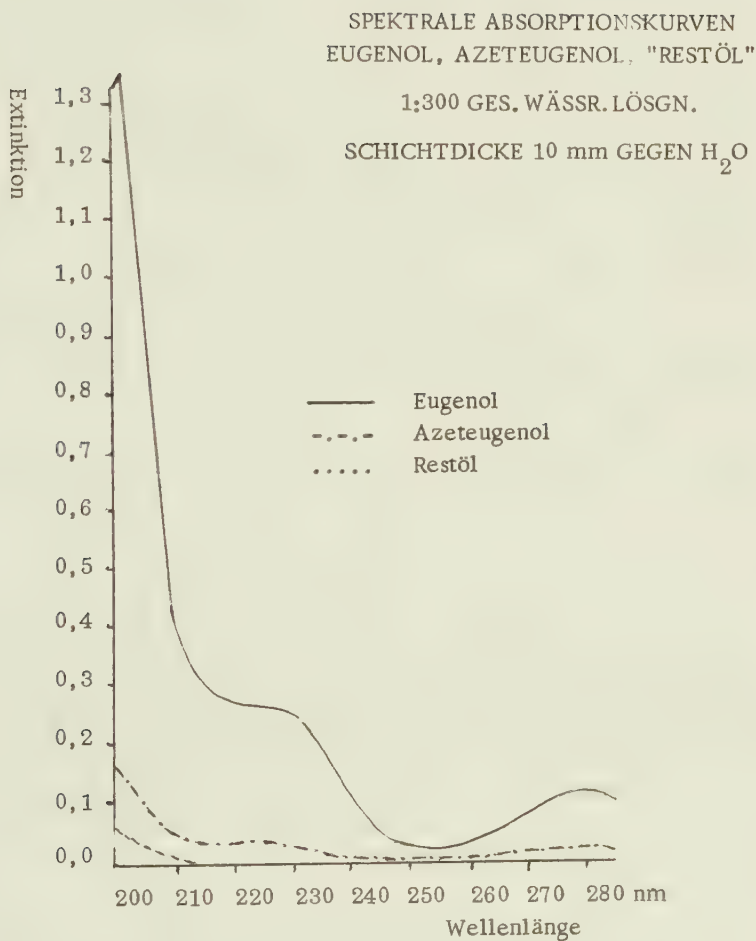
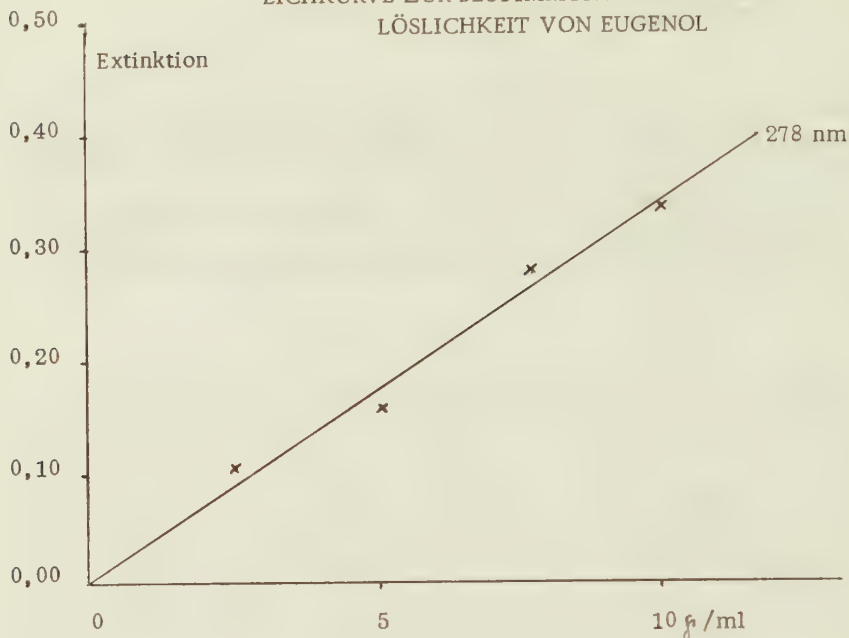


Abb. 3

EICHKURVE ZUR BESTIMMUNG DER WASSER-
LÖSLICHKEIT VON EUGENOL

b) Bestimmung der Wasserlöslichkeit von Eugenol

Mittels der Eichkurve war es nun möglich, den Eugenolgehalt der von uns für die biologischen Versuche hergestellten gesättigten wäßrigen Lösungen (s. S. 15) bzw. die Löslichkeit von Eugenol in Wasser erstmals zu bestimmen. Da die gesättigten Lösungen zu stark absorbierten, mußten sie 1 : 100 verdünnt werden, damit ihre Extinktionswerte in den Bereich der Eichkurve fielen. Die Extinktion dieser Lösung betrug beim Maximum 278 nm 0,315. Unter Zuhilfenahme der Eichkurve (Abb. 3) ließ sich nun graphisch die Löslichkeit in aqua dest. bei 20°C zu 950 μ g Eugenol/ml ermitteln (= 0,950 g Eugenol/l).

Aus diesem Wert folgt, daß die wenigen in der Literatur zu findenden Angaben über Wirkungen angeblich stärker konzentrierter wäßriger Eugenol-Lösungen (z.B. auf Bakterien ¹⁰⁾ und auf den Darm ⁵¹⁾ mit Vorbehalt aufzunehmen sind, da es sich dabei nicht mehr um echte Lösungen gehandelt haben dürfte.

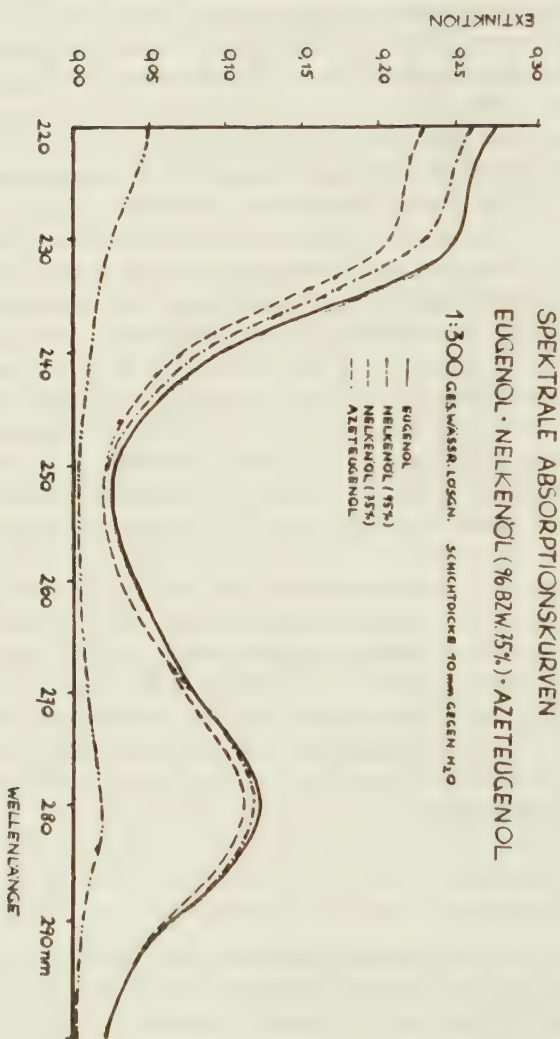
c) Eugenolgehalt in gesättigter wässriger Lösung von Nelkenöl

In gleicher Weise wurden nun spektrale Absorptionskurven wässriger Lösungen aufgenommen, die durch Schütteln mit Nelkenölen verschiedenen Eugenolgehaltes ins Gleichgewicht gebracht worden waren. Die Extinktionswerte einer gesättigten Lösung von Nelkenöl mit 75 % Eugenol liegen dabei zwar noch merklich unter jenen von reinem Eugenol, aber ein Nelkenöl mit 95 % Eugenol ist aufgrund seiner Extinktion nicht mehr sicher von reinem Eugenol zu unterscheiden, da sie bereits in dessen Streubereich fällt. Ebenso bestimmten wir, wie erwähnt, die Extinktionen gesättigter wässriger Lösungen von Azeteugenol und von "Restöl" (s. Abb. 2 und 4). Bei der von uns gewählten Verdünnung der obengenannten Ausgangslösungen (1 : 300) zeigt das Spektrum des noch schlechter löslichen Azeteugenols im UV nur sehr geringe Extinktionswerte, das des "Restöls" unter gleichen Bedingungen überhaupt keine Absorption unterhalb der Wellenlänge 215 nm, ein Umstand, der als Voraussetzung für später ausgeführte Versuche (s. u. S. 20) Bedeutung erhielt. Wie aus Abb. 4 ersichtlich, liegt die Absorption der gesättigten wässrigen Nelkenöllösungen wirklich unter der der gesättigten Eugenollösung. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß die Extinktion der Nelkenöllösung auch durch das im Nelkenöl enthaltene Azeteugenol mitbedingt sein dürfte. Da die sehr niedrige Extinktion selbst einer gesättigten wässrigen Lösung von Azet-Eugenol - sie beträgt nach unserer Messung in der 1 : 300 verdünnten Lösung (Abb. 4) bei 278 nm nur 0,02 - mit seiner, wie wir fanden, äußerst geringen Wasserlöslichkeit zusammenhängen dürfte, ist anzunehmen, daß von der Extinktion einer wässrigen Nelkenöllösung nur ein sehr kleiner Betrag für Azeteugenol in Abzug gebracht werden kann. Selbst wenn Azeteugenol pharmakologisch ganz unwirksam wäre (was nur annähernd der Fall zu sein scheint), so ist sein Anteil in einer wässrigen Nelkenöllösung so gering, daß er für die "mildere" Wirkung des Nelkenöls gegenüber dem Eugenol nicht nennenswert ins Gewicht fallen dürfte. Es spricht also wenig dafür, daß die mildere Wirkung des Nelkenöls auf dessen Gehalt an - unwirksamen - Azeteugenol beruht.

d) Abhängigkeit der in wässrige Lösung gehenden Eugenolmengen vom Eugenolgehalt der Nelkenöle

Ergänzend zur Aufnahme der Absorptionskurven stellten wir uns nun die Frage, wie der Eugenolgehalt gesättigter wässriger Lösungen bei verschiedenen Nelkenölen vom Eugenolgehalt des betreffenden Nelkenöls abhängt. Zu diesen Versuchen bereiteten wir uns künstlich eine Reihe von "Nelkenölen" abnehmenden Eugenolgehalts durch Mischung von Eugenol mit "Restöl", das bei unseren Eugenolbestimmungen (s. S. 15) als Rückstand angefallen war. Es eignete sich zu diesem Zwecke, wie bereits erwähnt, deshalb, weil seine gesättigte wässrige Lösung im Bereich von 278 nm und bei den von uns benützten Verdünnungen mit aqua dest.

Abb. 4

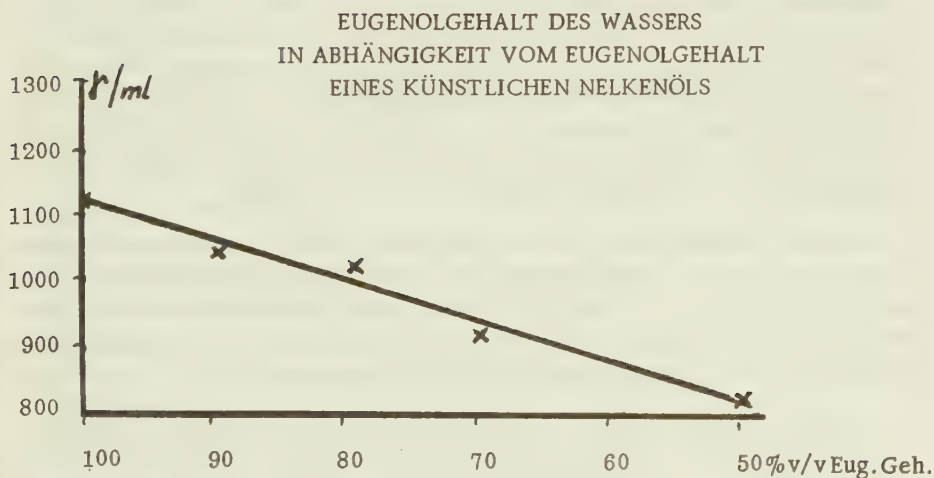


keine Eigenabsorption aufwies (s. Abb. 2).

Mittels einer mit Nadel armierten Tuberkulinspritze stellten wir uns aus Eugenol und "Restöl" kleine Mengen von Eugenol-Restölmischungen von 50 - 100 Volumenprozent her, wobei wir anschließend jeweils 1 ml der Öl-Mischung mit 49 ml aqua dest. bis zur Sättigung schüttelten (s. S. 15). Diese gesättigten wässrigen Lösungen wurden 1 : 100 verdünnt und ihr Eugenolgehalt anhand der Eichkurve (Abb. 3) ermittelt.

Aus Abb. 5 ergibt sich, daß die Abhängigkeit der in wässrige Lösung gehenden Eugenolmenge (nm/ml) vom Eugenolgehalt des "Nelkenöls" trotz der notgedrungen erheblichen Ungenauigkeit bei der Herstellung der Mischungen gut erkenntlich ist; und zwar bedingt eine Abnahme des Eugenolgehalts im Öl um je 10 Volum% eine Minderung des Eugenolgehalts im Wasser um rund 60,0 μ /ml.

Abb. 5



2. EIWEISSFÄLLENDE WIRKUNG

Ein Hinweis auf die gewebsschädigende Wirkung eines Stoffes ist oft schon durch die Feststellung seiner eiweißfällenden Wirkung gegeben. Es liegt daher nahe, zur Beantwortung der uns beschäftigenden Fragestellung das Eiweißfällungsvermögen von Eugenol bzw. Nelkenöl vergleichend heranzuziehen. Erst kürzlich hat H. SCHACH ⁴¹⁾ das Verhalten verschiedener ätherischer Öle, die in Verbindung mit Zinkoxyd zu Zahnfleischverbänden benutzt werden können, gegenüber Eiweißlösungen untersucht und dabei gefunden, daß sowohl Nelkenöl als auch Eugenol im Vergleich zu Bergamottöl stark eiweißfällend waren. Aus der dort veröffentlichten Fotografie eines Reagenzglasversuches ist zudem ersichtlich, daß Eugenol auch gegenüber Nelkenöl den stärkeren Niederschlag erzeugt.

In der Absicht zu einem quantitativen Vergleich zu gelangen, stellten wir unsererseits Fällungsversuche mit Eugenol und einem Nelkenöl niedrigen Eugenolgehaltes (Nr. 5) mit verschiedenen Eiweißlösungen an. Dabei ergaben sich zwar stets deutliche Unterschiede im Aussehen der so behandelten Eiweißlösungen, die jedoch nicht immer auf verschieden starker Eiweißfällung beruhten.

Schüttelt man beispielsweise frisches Rinderplasma oder 5 %ige Gelatinelösung (letztere im warmen Wasserbad) mit Eugenol bzw. Nelkenöl (1 ml : 30 ml), so stellt sich alsbald starke Trübung der Eiweißlösungen ein, wobei besonders die Gelatinelösung, die mit Eugenol geschüttelt wurde, viel weißer erscheint als die mit Nelkenöl behandelte Vergleichslösung. Da es aber weder durch Filtrieren (Filter Nr. 602 h) noch durch einfaches Zentrifugieren (4500 Umdrehungen während 10 Min.) gelang, einen Niederschlag abzuscheiden, handelt es sich in diesen Fällen offenbar um einen Emulsionsvorgang, bei dem sich das Eugenol anscheinend als wirksamerer "Emulgator" erweist. Wir konnten jedoch diesen Unterschieden, so bemerkenswert sie sein mochten, leider nicht weiter nachgehen.

Geeigneter zur Erzielung eines echten durch Filtration abtrennbaren Niederschlags erwies sich uns "Serumalbumin vom Rind" (Behring) und insbesondere Albumen ovi siccum (Erg. B. d. DAB VI) die nach seiner Mitteilung auch zu den Fällungsversuchen von SCHACH Verwendung gefunden hatten. Mit Eiweißlösungen dieser Art verfahren wir nach etlichen Vorversuchen wie folgt:

0,5 g Ovalbumin wurden in 10 ml aqua dest. gelöst und nach Zufügen von 1 ml Eugenol bzw. Nelkenöl 10 Minuten geschüttelt. Anschließend wurden die Lösungen, von denen die mit Eugenol geschüttelte weißer erschien, filtriert (Filter Nr. 602 h) und im Filtrat die Biuretreaktion angestellt. (0,4 ml wässrige Ovalbuminlösung + 4,6 ml NaCl-Lösung 0,9 % wurde mit 5 ml Biuretreagenz angesetzt). Nach 15 Minuten wurde die Extinktion bei 20 mm Schichtdicke unter Verwendung eines Filters von 546 nm bestimmt. Dabei ergaben sich folgende Werte:

TABELLE

	Extinktion	Durchlässigkeit in %
NaCl-Lösg. + Biuret (Leerwert)	0,00	100,0
Ovalbuminvergleichslösung	0,86	14,0
Filtrat der Ovalbuminlösung nach NÖ.-(Nr. 5) Behandlung	0,76	17,5
Filtrat der Ovalbuminlösung nach E.-Behandlung	0,60	25,0

Durch Schütteln mit Nelkenöl wären also nur 3,5 % des Eiweißes ausgefällt worden, während es bei Eugenol 11 % waren. Der Richtung nach übereinstimmend verlief auch der Versuch mit Serumalbumin vom Rind (Behring), wo diesmal die mit Nelkenöl behandelte Lösung weißer erschien. In den Filtraten ergaben sich nach Anstellung der Biuretreaktion aber folgende Extinktionswerte:

TABELLE

	Extinktion	Durchlässigkeit in %
NaCl-Lösg. + Biuret (Leerwert)	0,00	100,0
Albuminvergleichslösung	0,53	29,5
Filtrat der Albuminlösg. nach NÖ.-(Nr. 5) Behandlg.	0,53	29,5
Filtrat der Albuminlösg. nach E.-Behandlung	0,49	32,0

Unter den hier gewählten Bedingungen hatte also Nelkenöl trotz des täuschenden Scheines (weißeres Aussehen der Emulsion) nicht zu einer Eiweißfällung geführt, während sie beim Eugenol wenigstens angedeutet erscheint. Ähnliche, bisher nicht veröffentlichte Versuche sind auch von G. MASCHINSKI²⁹⁾ an der konservierenden Abteilung der Universitäts-Zahnklinik in München ausgeführt worden. Auch hier wurden Ovalbuminlösungen, die mit Nelkenöl bzw. Eugenol ge-

schüttelt wurden, filtriert und dann die Stärke der Fällung durch Bestimmung des Eiweißverlustes im Filtrat mittels KJELDAL-Bestimmung festgestellt. Hierbei zeigte sich Eugenol als stärker fällend. Die Zahl der Versuche war jedoch nicht ausreichend um den Unterschied als signifikant bezeichnen zu können.

B.) BIOLOGISCH-PHARMAKOLOGISCHE VERSUCHE

1. VORVERSUCHE

Vor der Heranziehung besonderer Testmethoden wurde versucht festzustellen, ob sich bei unbefangener Prüfung nicht schon durch die einfache Geruchs- und Geschmacksprüfung Unterschiede zwischen Nelkenöl und Eugenol erkennen lassen. Ist es doch denkbar, daß sich die angeblich mildere Wirkung des Nelkenöls, falls erhebliche Unterschiede bestehen, schon der einfachen Sinnesprüfung zu erkennen gibt. Eine solche Unterscheidung war jedoch, wie aus den folgenden Vorversuchen hervorgeht, nicht mit Sicherheit möglich.

a) Geruchs- und Geschmacksprobe

Es wurden 10 Versuchspersonen gebeten, den Geruch von Nelkenöl bzw. Eugenol, das ihnen in gleich aussehenden Glasschälchen dargeboten wurde, vergleichend zu beschreiben bzw. wurden sie nach dem Bestehen eines Geruchsunterschiedes befragt. Von diesen haben alle einen Geruchsunterschied bejaht, wobei 7 Personen das Eugenol als schärfer bzw. stärker riechend, 3 Versuchspersonen das Nelkenöl als intensiver bezeichneten. Der Verfasser kann diese beiden Öle mit Sicherheit geruchlich unterscheiden, wobei er das Eugenol in Übereinstimmung mit der in den meisten Handbüchern gegebenen Charakteristik als "scharf und würzig", den des Nelkenöls als etwas süßlicher aber nicht weniger eindringlich bezeichnen möchte. Es hat ein vergleichsweise mehr aromatisches Bukett.

Wesentlich schlechter sind auch für den Geübten die wässrigen Lösungen von Eugenol und Nelkenöl geschmacklich zu unterscheiden, weil hier jede eigentliche Geschmacksempfindung durch die sehr charakteristische Reizwirkung übertönt wird, die als "brennend", "stechend", "beißend", "scharf" (engl.: "pungent, spicy, taste"; Merck Index VI) bezeichnet wird. Da sie offensichtlich an nervöse Rezeptoren der Schleimhäute gebunden ist (siehe unten), die auch das Substrat der bekannten analgetischen Wirkung darstellen, so legt schon die einfache Sinnesprüfung den Gedanken nahe, daß das Eugenol in der Einteilung HEUBNERS²⁰⁾ zu den Reizstoffen mit vorwiegend neurotroper Komponente gerechnet werden muß. (Über die Frage einer Kapillar- und Zellgiftwirkung siehe weiter unten).

b) Wirkung auf Schleimhäute

1) beim Menschen

Nimmt man etwa einen Eßlöffel einer gesättigten wässrigen Lösung von Nelkenöl oder Eugenol in den Mund, so steigert sich die Empfindung des Brennens binnen weniger Sekunden bis zur Unerträglichkeit. Versuche, die Zeit zu bestimmen, während welcher man eine solche Lösung im Munde zu behalten vermag, führten jedoch nicht zu signifikanten Unterschieden für Nelkenöl bzw. Eugenol. Das gleiche gilt für die Aufbringung dieser Lösungen auf die Zunge.

Die starke sensible Reizung der Mundschleimhaut und des Zahnfleisches ist ein großer Nachteil bei der Anwendung von Zinkoxyd-Nelkenöl- bzw. -Eugenol-"Verbänden" z.B. nach Kürettage der Zahnfleischtaschen oder Gingivektomie. Sie macht es verständlich, daß man das Nelkenöl bei dieser Indikation, um die Reizwirkung herabzusetzen, mit indifferenten organischen oder mineralischen Ölen, insbesondere Leinöl ⁸⁾ in den USA auch Olivenöl und Paraffinum liquidum zu verdünnen oder ganz durch andere Öle (SCHACH ⁴¹⁾ Bergamottöl) zu ersetzen pflegt, obwohl man dabei eine Verlängerung der Abbindungszeit in Kauf nehmen muß. Auch der Zusatz von Colophonium, der in den USA neben dieser Indikation auch bei der dort noch zum Teil üblichen direkten Pulpenüberkappung mit Zinkoxyd-Eugenol gebräuchlich ist, dürfte außer der Klebefähigkeit auch die Viskosität der Paste erhöhen und dadurch wahrscheinlich auch zur Herabsetzung der Reizwirkung beitragen (vgl. Froschherzversuche).

Als ein subjektiv sehr aufschlußreicher Applikationsort erwies sich die Lippen-schleimhaut in der Versuchsanordnung, wie sie bereits HEUBNER ²⁰⁾ zur Untersuchung gewisser Reizstoffe angewandt hat: Verteilt man nach seinem Vorgehen mittels einer Pipette zwei Tropfen Eugenol bzw. Nelkenöl über die geschlossene Lippen-spalte, so stellt sich - nach einer Latenzzeit von ca. 10 - 15 Sekunden - ein Gefühl intensiven Brennens ein. Es erreicht seinen Höhepunkt nach durchschnittlich 45 - 60 Sekunden, um anschließend allmählich nachzulassen und nach 2 1/2 - 4 1/2 Minuten aufzuhören bzw. in eine Empfindung der Taubheit überzugehen. Wischt man vor dieser Zeit das Öl ab oder versucht man, es durch Mundspülen mit Wasser von den Lippen zu entfernen, so tritt das Brennen erneut in noch verstärktem Grade auf, vermutlich weil nun neue (noch empfindliche) Schleimhautpartien damit in Berührung kommen. Gleichzeitig erweisen sich die Lippen im Bereich der primären Einwirkung des Öls als deutlich gerötet (Kapillarwirkung).

Die brennende Empfindung, die nach dem Spülen sehr unangenehm ("unerträglich") werden kann, vermag durch Auftragen von Glycerinsalbe, wie sich zufällig herausstellte, schnell behoben zu werden.

Im übrigen erwies sich die Lippenprobe als ungeeignet, um Unterschiede zwischen Nelkenöl und Eugenol zu ermitteln, da die Feststellung zeitlicher Grenzen (für Beginn, Höhepunkt und Ende der Empfindung) nicht eindeutig genug gelingt.

2) bei Tieren

Die in den obigen Selbstversuchen gemachten Beobachtungen erfahren, wie zu erwarten, keine qualitative Erweiterung, wenn man wässrige Lösungen im Tierversuch auf Schleimhäute (Froschpfote, Kaninchenkornea) einwirken läßt:

Froschpfote

Zum Versuch dienten Eskulenten, die dekapitiert und in einer feuchten Kammer aufgehängt wurden. Nach einer halben Stunde wurde der Beinanziehreflex mittels Eintauchens der Pfote in Essigsäure-Lösungen geprüft, wobei die Latenzzeit sich in etwa umgekehrt proportional zur Essigsäurekonzentration verhält ³²⁾. Ersetzt man nun die verdünnte Essigsäure durch wässrige Lösungen von Eugenol bzw. Nelkenöl, so zeigt sich, daß vor Eintritt der in der zahnärztlichen Literatur meist allein hervorgehobenen lokalanalgetischen Wirkung beide Substanzen primär eine sensible Reizwirkung zeigen, die sich darin äußert, daß der Reflexfrosch das Bein aus der wässrigen Nelkenöl- bzw. Eugenollösung unter mehr oder weniger deutlichen Abwischbewegungen herauszieht. Aus dem hier wiedergegebenen Versuchsprotokoll geht hervor, daß die Latenzzeit des Reflexes, am gleichen Bein unter anschließendem "Auswaschen" in Ringerlösung wiederholt geprüft, bei den 1/2 gesättigten Lösungen etwa ebensolang ist, wie die der 1 %igen Essigsäurelösung.

Lösungen

	<u>Latenzzeiten in Sekunden</u>	
	rechtes Bein	linkes Bein
1 %ige Essigsäure	12,2	(7.2)
	(13.0)	10.1
	11.0	13.0
	(10.5)	15.0
	12.5	(17.1)
Nelkenöl 1/2 St.L.	17.0	15.0
	15.2	45.0
	(13.0)	
	17.0	
	(45.0)	
Eugenol 1/2 St.L.	15.2	11.0
	(6.2)	6.2
	9.0	über 1 Min.
	(15.5)	
	15.4	

Unter der Wirkung der wässrigen Nelkenöl- bzw. Eugenollösungen kommt es jedoch meist schon früher als in dem angeführten Beispiel trotz jeweils gründlichen Abspülens der Froschpfote zu einer zunehmenden Verlängerung der Latenzzeiten, d. h. die Lösung verliert schon nach mehrmaligem Eintauchen an Reizwert und in gleichem Maße entwickelt sich eine Anästhesie, die sich, einmal eingetreten, am Reflexfrosch (ohne Kreislauf) praktisch als nicht reversibel erwies bzw. war die für die Wiederkehr der Sensibilität erforderliche Zeit meist länger als die Überlebenszeit des Präparates.

Eine sehr ausgesprochene lokalanalgetische Wirkung des Eugenols, die jener von Pantocain nahekommt, wurde vor kurzem in einer Dissertation aus dem pharmakologischen Institut Hamburg (Mitteilung von Professor K. SÖRING) festgestellt.

Eine Oberflächenanästhesie an der Kaninchencornea wurde in der Reihenfolge Estil ® > Eugenol > Kresol > Guajakol kürzlich von SIEMONEIT ⁴⁶⁾ und Mitarbeitern zugleich mit einer "endoanästhetischen" Wirkung von gleicher Stärke wie bei Procain festgestellt.

Kaninchenkornea

Ähnliche Ergebnisse erhält man an der Kaninchenkornea nach Instillation von 0.9 %iger Kochsalzlösung, die durch Schütteln mit Nelkenöl bzw. Eugenol gesättigt worden ist. Dabei wird das Auge über mehrere Minuten fest geschlossen, was zweifellos der sensiblen Reizwirkung der Lösung zuzuschreiben ist. Anschließend läßt sich mittels eines Frey'schen Reizhaares eine vollständige Anästhesie der Kornea (Ausbleiben des Lidschlußreflexes) feststellen, wobei die normalerweise blaßrosa gefärbte Konjunktiva im Vergleich zu dem als Kontrolle dienenden, nur mit physiologischer Kochsalzlösung beschickten Auge höchstens eine leichte Rötung zeigt.

Zusammenfassend kann man sagen, daß sich an allen geprüften Schleimhäuten Nelkenöl und Eugenol auf Grund der starken initialen Reizwirkung für die nervösen Elemente der Schleimhaut als typische "Anästhetika dolorosa" erweisen. Das ist um so bemerkenswerter als im zahnärztlichen Schrifttum diese Stoffe schlechthin als Lokalanalgetika (engl. anodynes ¹⁾) gelten, wie sie auch seit jeher als "Mittel gegen Zahnschmerzen" gebräuchlich sind (s. S. 7) und bisher nur KOCH ²⁴⁾ über Schmerzen berichtet, die nach Applikation von Zinkoxyd-Eugenol in tiefen Kavitäten (bei 10 von 13 Fällen) auftraten, während dies nach Einlagen von Zinkoxyd-Nelkenöl seltener (3 von 15 Fällen) der Fall war. In größerer Entfernung von der Pulpa, d. h. bei Einlage in weniger tiefe Kavitäten hat dieser Autor das Auftreten von Spontanschmerzen in keinem Falle beobachtet.

c) Wirkung auf Cutis und Subcutis

1. beim Menschen

Im Verfolg der jetzt schon klassischen Studien HEUBNERS über die Pharmakologie der Reizstoffe wurde von OETTEL ³³⁾ unter anderen organischen Flüssigkeiten auch die Wirkung verschiedener Phenolderivate, darunter auch von Guajakol, Eugenol und Isoeugenol geprüft. Die erwähnten Öle wurden für die Dauer einer Stunde im Überschuß auf die Haut des Unterarmes appliziert; sie riefen dabei "weder direkt noch indirekt eine Wirkung hervor"; verursachten also auch in unverdünntem Zustand keinerlei subjektive Sensationen noch objektive Veränderungen der Haut, zum Unterschied von der bekannten, schlecht heilenden Nekrose nach Phenol und dessen ähnlich gut wasserlöslichen Verwandten.

2. beim Tier

Meerschweinchen

Unter die Haut der am Vortag rasierten Flanken wurden beiderseits der Wirbelsäule durch Injektion von 0,1 ml Nelkenöl bzw. Eugenol kleine Quaddeln gesetzt. Nach einigen Stunden zeigten sich die weißen Quaddeln von einem hyperämischen Rand umgeben. Im Bereich der Quaddel selbst wurden Stichreize nicht mehr beantwortet. Nach 24 und 48 Stunden zeigte die Haut im Bereich der Injektionsstelle eine sich derb anfühlende Verhärtung, die sich auch durch eine dunkelrote bis blaurote Färbung von der Umgebung unterschied.

Kaninchenohr

Zu den Versuchen wurden 3 große Tiere (im Gewicht von 4 - 4,5 kg) herangezogen. Nach schonender Enthaarung der Löffel mittels Cooperschere wurde auf deren dorsaler Seite einerseits (links) 0,05 ml Nelkenöl Nr. 3 (87 %), andererseits (rechts) die gleiche Menge Eugenol injiziert, so daß stets die Wirkung beider Stoffe am gleichen Tier verglichen wurde. Ein drittes Tier erhielt in gleicher Weise das doppelte Quantum. Das Öl wurde vorsichtig subkutan, d. h. zwischen Haut und Ohrknorpel an einer von größeren Gefäßen freien Stelle (Beobachtung im durchfallenden Licht) deponiert.

Ergebnisse:

Bereits nach 3 Stunden hatte sich im Umkreis des Injektionsortes ein besonders im durchfallenden Licht als dunkelroter Bezirk imponierendes Extravasat gebildet, dessen zunächst scharfe Grenzen etwas über den Bereich der primär gesetzten Quaddel hinausgingen. Rings um dieses Gebiet zentraler Hämolyse, das auf der Eugenol-seite etwas größer und viel weniger rückbildungsfähig war, entwickelte sich rasch ein pralles Ödem, das sich bis zum Ohransatz erstreckte. Diese derbe, kissenartige

Schwellung fühlte sich viel wärmer als die Umgebung an und zeigte im durchfallenden Licht deutliche Erweiterung und vermehrte Zeichnung der Gefäße. Die Erscheinungen, die im wesentlichen einer akuten serösen Entzündung entsprachen, nahmen besonders im Verlauf der nächsten Tage noch zu, um dann etwa vom 4.-5. Tage an von den Randpartien her abzuklingen. Das anfänglich tief dunkelrot erscheinende Ohr blaßte von den Rändern her wieder ab, so daß sich schließlich nur im Zentrum ein derbindurierter Bezirk mit wulstigen Rändern und kraterförmig vertiefter Mitte erhielt, die sich ledern und schorffartig anfühlte.

Während Stärke und Ausbreitung des entzündlichen Ödems auf der Seite des Nelkenöls eher noch eindrucksvoller war, kam es vielleicht gerade deshalb hier etwas rascher zu einer vollständigen Resorption des zentralen Hämatoms, das um diese Zeit im auffallenden Licht als scharfrandiger undurchsichtiger Bezirk mit diffus hellroter Umrandung auf wieder blaß gewordener Umgebung erschien.

Zuletzt erfolgte beiderseits Heilung unter Abstoßung des zentral gebildeten Schorfes.

2. HAUPTVERSUCHE

Nachdem die Vorversuche zunächst einige Hinweise auf das qualitative Wirkungsbild der in Frage stehenden Stoffe geliefert hatten, ohne indessen eine Grundlage für quantitative Vergleiche zu bieten, waren wir bestrebt, Methoden heranzuziehen, die einen solchen Vergleich ermöglichen sollten.

a) Hämolyse

Da aus den bisher beschriebenen Versuchen auf eine zellschädigende Wirkung insbesondere des Eugenols geschlossen werden konnte, versuchten wir diese Frage in Hämolyseversuchen näher zu klären, die auch H. SCHACH ⁴¹⁾ für die Beurteilung der Reizwirkung verschiedener ätherischer Öle, darunter auch Eugenol und Nelkenöl in Form der von ihm hierzu eingeführten Blutagarplattenmethode herangezogen hat. Bei dieser Methode, wo die zu prüfenden Lösungen in Stanzlöcher des Blutagars eingefüllt werden, macht sich die unterschiedliche Hämolyse verschiedener Substanzen in dem verschieden großen Durchmesser, der besonders in der Durchsicht scharf abgrenzbaren Aufhellungszone geltend. So elegant diese Methode ist, da mit ihr gleichzeitig auch bakteriostatische Wirkungen anhand der Hemmungshöfe vergleichend erfaßt werden können, ist sie zur Ermittlung feinerer Unterschiede anscheinend weniger geeignet, da sich dabei nach Mitteilung des Verfassers für Nelkenöl und Eugenol keine Unterschiede im Durchmesser des Hämolysehofes ergeben.

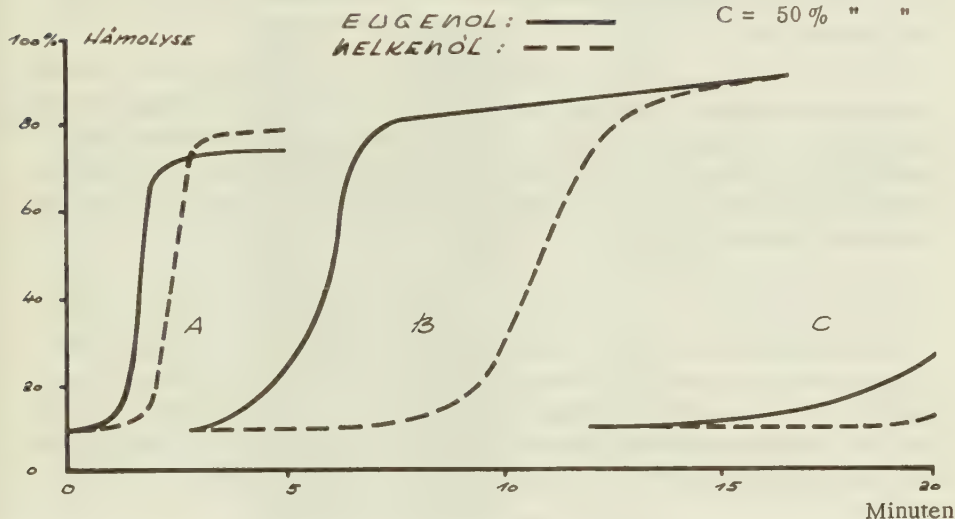
Wir versuchten daher die Hämolyseversuche so zu gestalten, daß auch noch

geringere Unterschiede im Hämolysevermögen erfaßt werden konnten. Um das zu erreichen, muß man statt der unverdünnten Öle deren wässrige Lösungen vergleichen, was auch insofern sinnvoll ist, als es für die pharmakologische Wirkung allemal auf das im Plasma gelöste Eugenol bzw. Nelkenöl ankommen muß. Dementsprechend gingen wir von ölgesättigten isotonischen Kochsalzlösungen aus, wobei je 9 ml derselben mit 1 ml einer mehrfach gewaschenen 2 %igen Aufschwemmung von Rindererythrozyten versetzt wurden. Während nun in den gesättigten isotonischen Lösungen binnen weniger Minuten vollständige Hämolyse eintrat, ließ schon eine relativ geringe Verdünnung dieser "Stammlösungen" die Hämolyse außerordentlich verzögert bzw. gar nicht mehr eintreten. Dabei war schon in orientierenden Reagenzglasversuchen, die diesen Bereich in Verdünnungsreihen erfaßten, deutlich eine stärker hämolytische Wirkung des Eugenols im Vergleich zum Nelkenöl zu erkennen, obwohl diese Versuche noch mit dem eugenolreichen Nelkenöl Nr. 1 (s. S. 14) durchgeführt wurden.

Besonders deutlich traten diese Unterschiede hervor, als wir den zeitlichen Verlauf der Hämolyse photometrisch verfolgten. Die Empfindlichkeit des Photometers (Eppendorf-Photometer von Netheler und Hinz, Hamburg) wurde dabei so eingestellt, daß eine mittels Saponin hämolysierte Erythrozytenaufschwemmung gleicher Verdünnung (= Kontrolle) gerade einen Vollausschlag des Galvanometers (= 100 %) erzeugte. 1 ml der 2 %igen Erythrozytenaufschwemmung wurde dann jeweils mit der zu 100 %, 70 % oder 50 % gesättigten isotonischen Nelkenöl- bzw. Eugenollösung wie beschrieben aufgefüllt. Vor Beginn der Hämolyse bzw. in der Kontrolle betrug der Ausschlag bei dieser Empfindlichkeit 8,0 - 9,5 %. Wie aus der Tabelle 1 und der zugehörigen graphischen Darstellung Abb. 6 hervorgeht, erfolgt bei allen Verdünnungen die Hämolyse durch Eugenol deutlich schneller als bei der entsprechenden Nelkenöllösung.

So betrug die Halbwertszeit (bei der gerade die Hälfte der Erythrozyten hämolysiert ist) für eine Eugenollösung von 70 % Sättigung nur 6 Minuten, während sie bei der entsprechenden Nelkenöllösung beinahe 11 Minuten beträgt, also ein zeitlicher Unterschied um fast das Doppelte. Bezeichnend ist ferner, daß in der 100 % gesättigten Lösung nicht nur Hämolyse, sondern außerdem eine schon dem freien Auge erkennbare Trübung eintrat, derzufolge die Lichtdurchlässigkeit nicht den der vollen Hämolyse entsprechenden Wert (100 %) erreichte. Dies war nur bei den verdünnteren, gerade noch hämolysierenden Grenzkonzentrationen der Fall, z.B. bei der zu 70 % gesättigten Eugenollösung nach 22 - 23 Minuten. So ist erkennbar, daß die höher gesättigten Lösungen außer der Hämolyse auch eine Eiweißfällung des in Lösung gegangenen Hämoglobins bewirken. Die Lichtdurchlässigkeit ist also eine Resultante aus beiden Komponenten; auch dabei erweist sich die Eugenollösung als stärker fällend im Vergleich zu der gleichgesättigten Nelkenöllösung.

Aus diesen Versuchen darf also gefolgert werden, daß Nelkenöl und Eugenol eine zellschädigende Wirkung mindestens auf bestimmte Bestandteile der Zellmem-

HÄMOLYSE VON KINDER-
ERYTHROZYTEN

bran zukommt, wobei aber, wie die Hämolyserversuche zeigen, schon geringe Verdünnung der gesättigten wässrigen Lösung diese zellschädigenden Wirkungen stark reduziert.

Von Interesse sind in diesem Zusammenhang die Beobachtungen gefäßschädigender Wirkung, die vor einiger Zeit an einem als Kurznarkotikum verwendeten Eugenolderivat gemacht wurden. Die Substanz, das Diäthylamid der Eugenolglykolsäure (im Handel als "Estil") führte am Menschen sowie im Tierversuch zu Schädigung der Gefäßwand bzw. zu Nekrosen, die sich als stark von der Konzentration abhängig erwiesen ³⁾.

Diese starke Abhängigkeit der zellschädigenden Wirkung von der relativen Sättigung der wässrigen Lösung ist insofern von Bedeutung als sie verstehen läßt, daß das Ergebnis der Nelkenöl- oder Eugenoleinwirkung auf die Pulpa sehr weitgehend vom Gleichgewicht zwischen Anflutung und Abtransport (Verdünnung) abhängen muß, deren Größe ihrerseits wieder von den klinischen Gegebenheiten des Einzelfalles bestimmt werden. So nimmt mit der Tiefe der Kavität nicht nur die Entfernung von der Pulpa ab, sondern es ist wegen des radiären zur Pulpa hin konvergierenden Verlaufes der sich zentralwärts erweiternden Dentinkanälchen bei tiefreichenden Kavitäten auch mit einer unverhältnismäßig stärkeren Diffusion der Öle durch das Dentin zu rechnen, wobei ihr Abtransport durch das Gefäßsystem

der Pulpa, wie das den zahnärztlichen Klinikern bekannt ist, im übrigen auch noch von der biologischen Leistungsfähigkeit dieses Organs (Alter des Patienten bzw. Enge des Kanals, Vorgeschichte der Pulpa u. ä.) abhängen wird.

Auf die gleiche Weise wurden auch wässrige Lösungen von Azeteugenol und Restöl auf ihre hämolytische Wirkung untersucht. Es ergab sich hierbei nur eine ganz geringfügige zelltoxische Wirkung.

Nachdem Versuche auf Eiweißfällung und Hämolyse gezeigt hatten, daß die Erfassung quantitativer Wirkungsunterschiede zwischen Nelkenöl und Eugenol in ihren verdünnten wässrigen Lösungen grundsätzlich möglich ist, sollte nun geprüft werden, ob sich dieser Sachverhalt auch anhand funktioneller biologischer Methoden bestätigen läßt. Es war naheliegend, dafür als Testobjekt zuerst das isolierte Froschherz heranzuziehen.

b) Froschherz

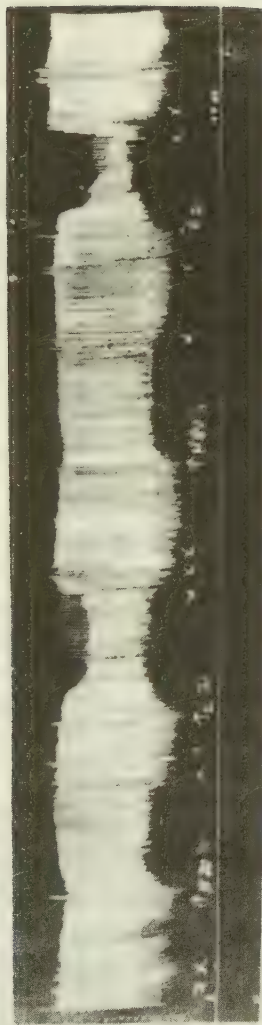
Es wurden in den Monaten Oktober und März/April Herzen von Eskulenten an der Straubischen Kanüle verwendet und ihre Tätigkeit auf einer Rußkurve registriert. Es wurden gesättigte Lösungen von Nelkenöl bzw. Eugenol durch Schütteln der Öle mit Froschringerlösung hergestellt (siehe Seite 15) und diese Stammlösungen nach Bedarf mit Froschringerlösung folgender Zusammensetzung verdünnt.

60.00 g Na Cl	}	Stammlsg.
0.75 g K Cl		
2.00 g CaCl ₂		
H ₂ O ad 1000 ml		

Zum Gebrauch wurden 100 ml Stammlsg. nach Zusatz von 0,1 g NaHCO₃ und 1,0 g D-glukose mit aqua dest. auf 1 Liter aufgefüllt.

Wie schon nach den Versuchen von STOSS⁵¹⁾ am Kaninchendarm und denen von JUNKMANN²²⁾ am Froschherzen zu erwarten war, entfalteten Eugenol/Nelkenöl auf das Froschherz eine im wesentlichen lähmende Wirkung, die als negativ inotrope Wirkung in einer Herabsetzung der Kontraktionshöhe zum Ausdruck kommt. Infolge Tonusverlust des Herzens und dadurch bedingter Annäherung an die Kugelform steigen auch die Fußpunkte der Kurve gleichzeitig etwas an bzw. wird die Amplitude von beiden Seiten verschmälert. Selbst stark verdünnte z. B. zu 1/30 gesättigte wässrige Lösungen bewirkten noch einen deutlichen Effekt dieser Art, der nach nicht zu langer Einwirkung durch mehrmaliges Auswaschen mit Ringerlösung zunächst noch reversibel war; dabei bewirkte in allen Fällen das Eugenol (es wurden 40 Froschherzen untersucht) eine stärkere Abnahme der Kontraktionshöhe als die entsprechend gesättigte Nelkenöllösung (vgl. Abb. 7). Die Unterschiede waren oft weniger stark wie in diesem Beispiel, sie lagen aber immer in der gleichen Richtung.

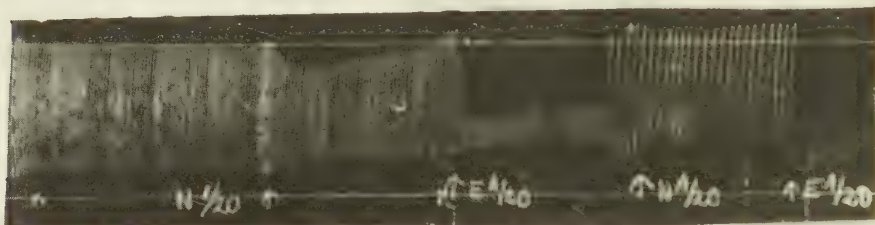
Abb. 7



Froschherzkurve: Bei ↑ Wechsel der Ringerlösung gegen solche, die 1/15 mit Eugenol (E) bzw. Nelkenöl N 70 = (NÖ Nr. 5) bzw. N 80 = (NÖ Nr. 3) gesättigt war. Zwischen den Versuchen Auswaschen mit Frosch-Ringer (x). Unverkennbar ist die stärkere Abnahme der Hubhöhe nach Eugenol.

Eine genauere Ermittlung des Wirkungsäquivalents war wegen der unzureichenden Reversibilität der Effekte nicht möglich. So kam es auch, wenn man Nelkenöllösung durch die gleich-gesättigte Eugenöllösung unmittelbar (ohne Auswaschen) ersetzte, stets zu einer weiteren Depression (Abb. 8), während es umgekehrt nicht mit Sicherheit gelang, beim Übergang von Eugenol auf Nelkenöl eine unzweideutige Erholung zu erzielen. Im ganzen ergaben die Versuche am Froschherzen

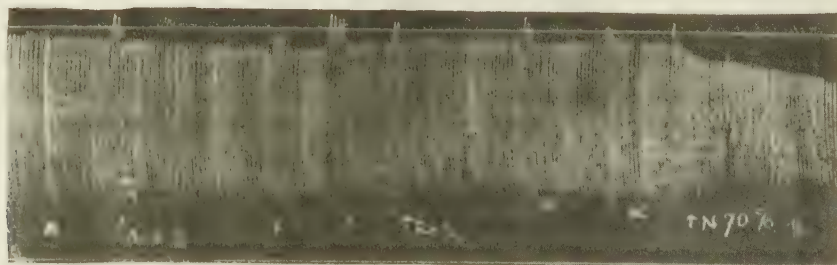
Abb. 8



Froschherzkurve. Bei ↑ Wechsel der Ringerlösung gegen solche die 1/20 mit Nelkenöl (N) bzw. Eugenol (E) gesättigt ist. Zwischen den Versuchen Auswaschen mit Frosch-Ringer (x). Unverkennbar ist die stärkere Abnahme der Hubhöhe nach Eugenol.

immerhin eindeutig, daß selbst das eugenolreiche Nelkenöl Nr. 1 (siehe Seite 14), zweifellos schwächer wirkte als Eugenol. Es mag noch erwähnt sein, daß sich mit wässrigen Phenollösungen ähnliche Effekte bei Konzentrationen von etwa 0,01 % erzielen ließen, doch setzte die Wirkung nicht so abrupt ein wie bei den ätherischen Ölen, bei denen es oft unmittelbar nach ihrem Zusatz zur stärksten Wirkung kam. Im übrigen schien die Wirkung des Eugenols auch insofern stärker, als es bei diesem häufiger wie beim Nelkenöl zu Überleitungsstörungen (z.B. Rhythmushalbie-rungen) kam.

Abb. 9



Bei ↑ Zusatz von Azeteugenol (Ac.E) 1/15 ges. wäss. Lsg., u. Nelkenöl (Nö) Nr. 5 1/15 ges. wässr. Lsg. Bei x = Auswaschen mit Ringerlösung. Im Vergleich mit Nelkenöl zeigten Azeteugenol u. Rö. nahezu keine Wirkung auf das Froschherz.

In der gleichen Versuchsanordnung wurde die Wirkung von Azeteugenol und Restöl auf das Froschherz untersucht. Im Vergleich mit einem Nelkenöl niedrigen Eugenolgehalts (Nr. 5) wurden nur sehr schwache Amplitudenänderungen erzielt wie aus Abb. 9 ersichtlich ist.

c) Kaulquappen

Als brauchbares Testobjekt für quantitativ vergleichende Versuche erwiesen sich Kaulquappen, die bereits OVERTON in seinen klassischen Versuchen über die Narkose zur Bestimmung der narkotischen Grenzkonzentration verschiedener Stoffe, darunter auch des Eugenols, herangezogen hatte. In seinen "Studien über die Narkose" ³⁵⁾ gibt er an, daß sie bei der Konzentration von 1 : 50 000 eintritt, eine Angabe die, wie sich nachträglich ergab, recht gut mit unseren Befunden übereinstimmte.

Anstelle der Bestimmung der narkotischen Grenzkonzentration, die schon infolge der Tiervariation manches Problem aufwirft, entschlossen wir uns zur Anwendung einer statistischen Methode, bei der der Prozentsatz der positiv reagierenden Tiere im Sinne eines "Alles- oder Nichts"-Effektes festgestellt werden sollte. Bei diesem Vorgehen erhält man eine für jeden Stoff charakteristische Konzentrationswirkungskurve, deren Absolutwerte man dem Vergleich der Wirkungsstärke zugrundelegen kann.

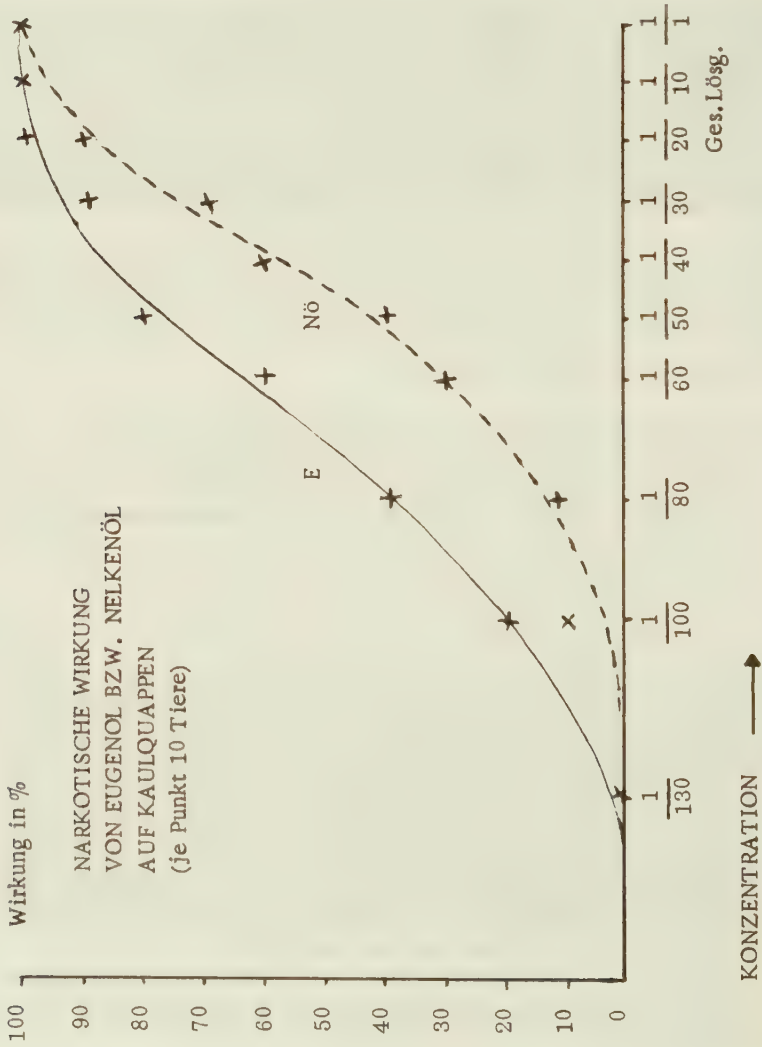
Da wir die Versuche erst im August in Angriff nehmen konnten, wo Kaulquappen selten geworden waren, konnten wir für jede Konzentrationsstufe nur 10 Kaulquappen einsetzen, so daß unsere Meßgenauigkeit nur bescheiden war. Als positive Reaktion definierten wir nach einigen Vorversuchen den Eintritt von Unbeweglichkeit der Tiere (Ertragen der Rückenlage) 3 Minuten nach deren Einbringen in die Lösung.

Zu den Versuchen wurden Tiere gleicher Größe aus demselben Laichgebiet gewählt, die mit Fleischpulver und verschiedenen Wasserpflanzen gefüttert wurden. Zur Herstellung der Lösungen wurde nicht Leitungswasser, sondern das Grundwasser benutzt, in dem die Tiere gefangen worden waren. Die Wassertemperatur schwankte bei den Versuchen zwischen 19 und 20°C. Praktisch wurde so vorgegangen, daß von 10 etwa gleichgroßen Tieren je 2 in ein Glasgefäß gebracht wurden, das 200 ml der zu prüfenden Lösung enthielt. Nach Ablauf von genau 3 Minuten wurden die "+" und "-" Kaulquappen notiert. Fünf Teilversuche mit je zwei Tieren ergaben einen abgeschlossenen Versuch. Dieselbe Prüfung wurde jeweils abwechselnd mit den Nelkenöl- und Eugenollösungen durchgeführt. Um eine eventuelle Gewöhnung oder Sensibilisierung durch einen vorausgegangenen Versuch auszuschließen, kam jedes Tier grundsätzlich nur einmal in den Versuch.

(s. Tab. 2)

Trägt man den so ermittelten Prozentsatz der positiv reagierenden Tiere auf der Ordinate und die zugehörigen Konzentrationen in gleichfalls arithmetischem Maßstab auf der Abszisse auf, so ergeben sich für Eugenol bzw. Nelkenöl zwei eindeutig verschiedene Konzentrations-Wirkungskurven, in deren Horizontalverschiebung, die unterschiedliche Wirkungsstärke der beiden Stoffe zum Ausdruck kommt (Abb. 10).

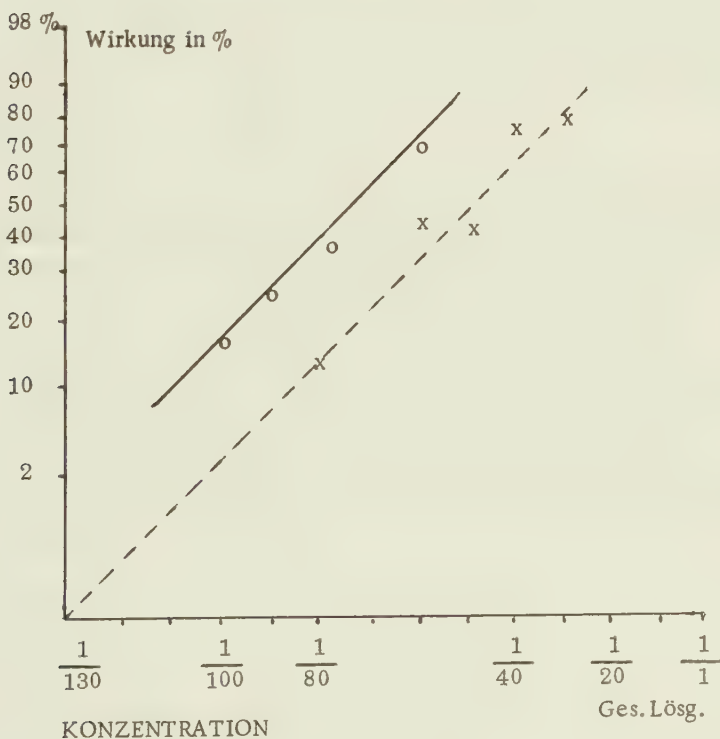
Abb. 10



Für die Ermittlung des Wirkungsunterschiedes eignet sich auch in diesem Fall die mittlere narkotische Konzentration (EC_{50}). Graphisch ermittelt ergibt sich anhand Abb. 10, daß EC_{50} für Eugenol bei etwa $1/70$ gesättigter Lösung liegt, während sie beim Nelkenöl bei $1/45$ der gesättigten Lösung beträgt. Gemessen an der narkotischen Wirkung auf Kaulquappen ist also die Wirkung des Eugenols 1,5 mal stärker als die des 96 %igen Nelkenöls (Nr. 1). Mittels eines einfachen von A. HAZEN¹⁸⁾ angegebenen Verfahrens läßt sich die arithmetische Prozentteilung der Ordinate in eine logarithmische verwandeln, wobei sich die beiden Sigmoidkurven als zwei parallel verschobene Geraden darstellen, um welche die gefundenen Werte, da ihnen die normale Häufigkeitsverteilung zugrunde liegt, geringfügig streuen (Abb. 11).

Abb. 11

LOGARITHMISCHE DARSTELLUNG DER KONZ. - WIRKUNGSKURVE



Es zeigt sich also, daß dieses wegen seiner Einfachheit gern angewandte statistische Alles- oder Nichts-Verfahren das nach THER⁵⁴⁾ noch kleinste Wirkungsunterschiede erkennen läßt, auch in diesem Fall scharf definierte Werte ergibt und dadurch die Beantwortung der eingangs aufgeworfenen Frage nach quantitativen Wirkungsunterschieden zwischen Nelkenöl und Eugenol in einfacher Weise gestattete.

III. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Versuchen wir, die Gesamtheit der hier geschilderten Versuche auf ihr wesentliches Ergebnis hin zu befragen, so läßt sich um den Preis einer gewissen Vereinfachung sagen, daß der Vergleich der unverdünnten Öle keinen Unterschied von Eugenol und Nelkenöl erkennen läßt. Der Unwirksamkeit beider Öle auf der Haut steht bei subkutaner Applikation eine so starke Reizwirkung gegenüber, daß möglicherweise bestehende Unterschiede der Wirkungsstärke bei den von uns (vermutlich zu groß) gewählten Dosen in der Heftigkeit der entzündlichen Reaktion gewissermaßen untergehen.

Pharmakologisch ununterscheidbar erwiesen sich aber auch wässrige Lösungen von Nelkenöl bzw. Eugenol, wenn man sie an Schleimhäuten prüft (Mund- und Lippenschleimhaut vom Menschen - Froschpote, Kaninchencornea), weil hier die heftige primäre Reizwirkung sensibler Rezeptoren mit der sich allmählich entwickelnden, anhaltenden Anästhesie interferiert.

In ähnlicher Weise wird auch am Froschherzen eine primär "narkotische" (negative inotrope) Wirkung durch eine sekundäre anästhetische ("endoanästhetische") Wirkung überdeckt. Die Primärwirkung wässriger Eugenollösungen ist zwar stärker als die von Nelkenöllösungen, ein quantitativer Vergleich durch "Eingabeln" wird aber durch die mangelnde Auswaschbarkeit der endoanästhetischen oder beider Wirkungen unmöglich gemacht.

Die geringen Unterschiede zwischen Nelkenöl und Eugenol bzw. ihr Fehlen bei unverdünnten Ölen findet seine Erklärung in unserer Feststellung, daß eine wässrige Phase, die mit Nelkenöl im Gleichgewicht steht, fast ebensoviel Eugenol enthält wie nach Schütteln mit reinem Eugenol. Auch "eugenolarmen" Nelkenölen kommt also eine unverhältnismäßig starke Eugenolwirkung zu.

In Anbetracht dieses Umstandes ist es bemerkenswert, daß sich zwischen Nelkenöl und Eugenol dennoch eindeutige quantitative Unterschiede der Wirkungsstärke feststellen lassen, wenn man wässrige Lösungen in geeigneter Verdünnung auf solche biologischen Systeme wirken läßt (Erythrozyten; Kaulquappen), die noch feine Unterschiede in der cytolytischen bzw. narkotischen Wirkung erkennen lassen und bei denen störende sekundäre Wirkungen (auf sensible Rezeptoren) nicht vorhanden sind.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Mischungen von Zinkoxyd mit Nelkenöl oder Eugenol wurden nicht nur wegen ihrer mechanischen Eigenschaften (Zementbildung) als provisorisches Füllungsmittel für Kavitäten im Verlauf der Kariesbehandlung benutzt, sondern vor allem auch zur Behandlung der begleitenden Pulpitis geschätzt. Soweit Mißerfolge dieser Therapie nicht auf die Schwierigkeiten der Pulpitis-Diagnose zurückgeführt werden, neigen einige konservierende Kliniker dazu, sie der Anwendung von Eugenol anstelle des angeblich "milder" wirkenden Nelkenöls zuzuschreiben.

Eine "mildere" Wirkung des Nelkenöls könnte evtl. auf dessen Anteil an relativ indifferenten Bestandteilen - z.B. Caryophyllenen und Azeteugenol - beruhen. Experimentelle Unterlagen über Wirkungsunterschiede von Nelkenöl/Eugenol lagen jedoch bisher nicht vor.

Anhand spektrophotometrischer Bestimmungen zeigten eigene Versuche, daß der Eugenolgehalt wässriger Lösungen, die mit Nelkenöl im Gleichgewicht stehen, nur um wenig geringer ist, als nach Sättigung mit reinem Eugenol. Ob diese geringe Differenz eine (s. Abb. 4 und 5) unterschiedliche Wirkung begründen kann, wurde im zweiten Teil der Untersuchungen an verschiedenen Systemen geprüft. Dabei fanden wir:

Unterschiede im Verhalten von Nelkenöl und Eugenol

1. sind an Eiweißlösungen (Fällung, Emulsionsbildung) in geringem Umfang nachweisbar.
2. können aufgrund der sensiblen Reizwirkung auf Schleimhäute (Mundschleimhaut, Lippen beim Menschen, Kaninchencornea) subjektiv nicht und objektiv nur schwer ermittelt werden (Hautreizung beim Reflexfrosch), weil hier überall die Reizung in anhaltende Anästhesie übergeht.
3. Bei subkutaner Injektion unverdünnter Öle konnten wegen der intensiven Entzündung Unterschiede in Ausdehnung und Verlauf nicht festgestellt werden.
4. An dem nach STRAUB isolierten Froschherzen war die primäre Abnahme der Amplitude bei Eugenol immer stärker als bei Nelkenöl. Azeteugenol sowie der nach Entfernung des Eugenols aus dem Nelkenöl verbleibende Rückstand ("Restöl") war nahezu wirkungslos.
5. Gesättigte wässrige Lösung von Eugenol führte im Bereich bestimmter Verdünnungen schneller zur Hämolyse wie die entsprechend mit Nelkenöl hergestellte Verdünnung. Dabei wurde in den Eugenollösungen auch eine stärkere Fällung des ausgetretenen Hämoglobins bewirkt.
6. Ein quantitativ eindeutiger Unterschied ergab sich anhand der narkotischen Wirkung auf Kaulquappen selbst gegenüber eugenolreichem (96 %) Nelkenöl:

In gleichgesättigten wässrigen Lösungen trat Narkose beim Eugenol bei einem größeren Prozentsatz der Kaulquappen ein bzw. erwies sich anhand der so gefundenen mittleren narkotischen Konzentration (EC_{50}) die Wirkung des Eugenols als 1,5 mal stärker als die des 96 %igen Nelkenöls.

Durch Heranziehung genügend empfindlicher biologischer Methoden läßt sich also an biologischen Systemen, an denen die Reizung und Lähmung sensibler Rezeptoren nicht stört, eine "mildere Wirkung" des Nelkenöls gerade noch eindeutig feststellen.

Herrn Professor Dr. R. von WERZ danke ich an dieser Stelle aufrichtig für die Überlassung des Themas, für die Unterstützung bei der Ausarbeitung der Arbeit sowie für die Übernahme des Referats.

Herrn Professor Dr. M. KIESE gilt mein Dank, daß ich in seinem Institut meine Untersuchungen ausführen konnte.

Herrn Dr. RENNER schulde ich für wertvolle Ratschläge bei den physikalisch-chemischen Versuchen Dank.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ACCEPTED DENTAL REMEDIES:
 S. 118, 1962
- 2 ACCEPTED DENTAL REMEDIES:
 S. 126 ff, 1951
- 3 BEER und Mitarbeiter: Mü. med. W.S. 8, 422, 1963
- 4 BERMANN and MASSLER:
 Experimental Pulpotomies in Rat Molar,
 I. D.Res. 37, 229, 1958
- 5 BODECKER: C.F.N.Y.St.D.J. 20, 207, 1954
 Ref. Maschinski, DZZ 1, 1956
- 6 BOURNOT: Die Pharmazie 15, 25, 1960
- 7 BERGER: Mikrobiologie der Mundhöhle 1955
 Urban u. Schwarzenbergverlag München-Berlin
- 8 BÜCHS: Zitiert bei Ketterl, Z.P. 13, 156, 1962
- 9 CASTAGNOLA: Die Lebenderhaltung der Pulpa.
 Carl Hanser Verlag München 1953
- 10 CAVEL: Pharmakologie der ätherischen Öle
 Hauschild Fr. in Gildemeister-Hoffmann,
 Die äther. Öle 1, 110 ff
- 11 D'ANS und LAX: Taschenbuch für Chemiker und Physiker 1949
- 12 ERDMANN: J.prakt.Chem. 56, 142, 1897
- 13 GILDEMEISTER HOFFMANN:
 Ätherische Öle, 4, 88, 1960
- 14 C. GOTTFRIED: J.Res.nat.Bur.Stand. 133-38, 288, 1955
- 15 GURLEY u. van HUYSSEN:
 Histologic response of the teeth of dogs to
 operative procedures J. dent. Res (Am.) 1940, 2
- 16 HAGERS Handbuch: 1, 664 ff.
- 17 HÄUPL: Lehrbuch der Zahnheilkunde 1, 406, 566, 1953
- 18 HAZEN: Zitiert bei Ther, Pharm. Methoden Stuttgart 1949
- 19 HENRY, COPELAND, SWEENEY, FORCIATI:
 Zentralbl. 4, 3825, 1958

- 20 HEUBNER: Arch. ex Path.u.Pharm. 107, 129, 1925
- 21 HEYDEN: Behandlung des Kavitätenbodens bei tiefer Karies.
ZW. u. Z.R. 8, 259, 1960
- 22 JUNKMANN: Äther.Öle, Froschherz, Arch. ex Path.u.Pharm.
105, 169, 1925
- 23 KETTENBACH Private Mitteilung
- 24 KOCH, R.: Die Einwirkung von Nelkenöl (Oleum carjophylli)
und Eugenol auf die Pulpa.
Diss. Basel 1953
- 25 LÖRINCZY-LANDGRAF: DZZ 4, 1013, 1957
- 26 LÜTHI: Über den Einfluß von Chlorphenol, Trikresol
Foramlin, Triopaste, Albrecht'sche Wurzel-
füllung und Eugenol auf das Periodontium des
Hundes. Diss. Basel 1928
- 27 MAEGLIN: Über bakteriologische Untersuchungen mit
antiseptischen Unterlagezementen
DZZ 8, 149, 1953
- 28 MAIZUMI u. SAUERWEIN: Die Wirkung verschiedener Vitalerhaltungs- u.
Würzelfüllmittel auf Gewebekulturen
DZZ 24, 1628, 1962
- 29 MASCHINSKI: Private Mitteilung
- 30 MEYER, F. und MEYER, E.: Arch.Pharm. 290, 109, 1962
- 31 MÜLLER, O.: Pulpa u. Wurzelbehandlung.
B. Schwabe, Basel 1953
- 32 von MURALT: Praktische Physiologie, 3. Auflage 1948
- 33 OETTEL: Einwirkung organ. Flüssigkeiten auf die Haut
Arch. ex Path. u. Pharm. 183, 641, 1936
- 34 ÖSTERREICHISCHES ARZNEIBUCH:
9. Ausgabe S. 262, 1960
- 35 OVERTON: Studien über die Narkose. Jena 1901
- 36 QUIGLEY: Experimental Exposure of Hamster Pulp Oral.
Surg., Oral Med. and Oral Path. 9, 1124, 1956

- 37 REBEL: Konservierende Zahnhk. 1950
- 38 REBEL: Die Widerstands- und Regenerationskraft der Pulpa
ZW u. ZR 16, 487, 1959
- 39 ROTKE: Die Behandlung der Dentinwunde bei Füllungs-
therapie, DDZ 4, 118, 1957
- 40 RUST: Die direkte Pulpenüberkappung mit Zinkoxyd-
Nelkenöl
ZW u. ZR 278, 1956
- 41 SCHACH: Experimentelle Untersuchung zu einigen ätheri-
schen Ölen, die in der Zahnheilkunde Verwendung
finden unter besonderer Berücksichtigung des Nel-
kenöls als Bestandteil gewisser Zahnfleischver-
bände. DZZ 6, 325, 1963
- 42 SCHREIBER, VORTMANN, MITZE, MOTSCH: ZM 23, 1243, 1962
- 43 SCHRÖDER, A.: Zur Frage d. kons. u. chirurg. Behandlung d.
Pulpitis.
Österr. Zeitschr. f. Stomat. 59, 81, 1962
- 44 SCHUG-KÖSTERS: Die Behandlung der Pulpa und des apikalen
Parodontiums, Berlin 1959
- 45 SCHUMACHER, Ed.: Über den Einfluß von Eugenol auf die Pulpa des
menschl. Zahnes und auf das Periodontium des
Hundes. Diss. Basel 1930
- 46 SIEMONEIT, ZIPF, DITTMANN: Deutsche pharm. Gesellschaft 251, 144, 1965
- 47 SMITH: Perfum Record. 37, 144, 1946
- 48 SPRETER v. KREUDENSTEIN: DZZ 7, 539, 1953
- 49 SPRUNGE: Pharmac. J. 70, 701, 757, 1903
- 50 STAHL und TRENNHEUSER: Arch. Pharm. 65, 826-837, 1960
- 51 STOSS: Arch. ex Path. und Pharm. 95, 304, 1922
- 52 SZABO: Über Ignipunktur in der Behandlung der akzidentell
freigelegten Pulpen. Öst.-ung. Vischr. Zahnhk. 3,
1902

- 53 THE MERCK'S INDEX: VI. Auflage
- 54 THER: Pharm. Methoden, Stuttgart 1949
- 55 THOM: Handbuch der praktischen und wissenschaftlichen Pharmazie Berlin u. Wien 1924 - 1931
- 56 TURKHEIM: DZZ 16, 918, 1950
- 57 WAGNER-VINCENT: Bestimmung von Tymol und Eugenol mit Ionenaustauschern.
J. Pharmac. Sc. 51, 4: 365/6, 1962,
Ref. Pharm. Ztg. Nr. 28/1962
- 58 WANNENMACHER: Pathologie und Therapie des Zahnmarks
DZZ 3, 174, 1960
- 59 ZANDER und GLAS: Pulp Healing. J.D. Res. 28, 97, 1949

LEBENS LAUF

Am 27. 3. 1937 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Kilian Krausenecker und seiner Frau Margarethe, geb. Riedl in Schleißheim geboren.

Von 1943 bis 1947 besuchte ich die Volksschule in Schleißheim. 1947 trat ich in das Theresiengymnasium in München ein. Ab der 4. Klasse besuchte ich das Deutsche Gymnasium zu Freising und legte dort 1957 die Reifeprüfung ab.

Vom November 1957 bis Februar 1963 studierte ich Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München. Am 31. 10. 1960 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und erhielt am 13. 2. 1964 die Approbation als Zahnarzt.

Am 18. 8. 1961 heiratete ich Fräulein Gertraud Lehner aus Schleißheim.

Seit 1. April 1964 bin ich als Assistent bei Herrn Professor Dr. Dr. J. Heiss an der chirurgischen Abteilung der Universitätsklinik für Zahn- Mund- und Kieferkrankheiten in München beschäftigt.

